

DENISE ISOLDI SEABRA

Refinamento das técnicas de anestesia injetável em hamsters

São Paulo

2019

DENISE ISOLDI SEABRA

Refinamento das técnicas de anestesia injetável em hamsters

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental e Comparada da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Departamento:

Departamento de Patologia

Área de concentração:

Patologia Experimental e Comparada

Orientador:

Prof^a. Dr^a. Claudia Madalena Cabrera
Mori

São Paulo

2019

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virgínie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T. 3834
FMVZ

Seabra, Denise Isoldi
Refinamento das técnicas de anestesia injetável em hamsters / Denise Isoldi Seabra.
– 2019.
130 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Patologia, São Paulo, 2019.

Programa de Pós-Graduação: Patologia Experimental e Comparada.

Área de concentração: Patologia Experimental e Comparada.

Orientadora: Profa. Dra. Claudia Madalena Cabrera Mori.

1. Hamster. 2. Anestesia. 3. Meloxicam. 4. Tramadol. I. Título.

**CERTIFICADO**

Certificamos que a proposta intitulada "Refinamento das técnicas de anestesia injetável em hamsters visando promover adequada analgesia intra e pós-cirúrgica", protocolada sob o CEUA nº 2395260817, sob a responsabilidade de **Cláudia Madalena Cabrera Mori e equipe; Denise Isoldi Seabra** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 13/09/2017.

We certify that the proposal "Refinement of techniques of injectable anesthesia in hamsters aiming to promote adequate intra and post-surgical analgesia", utilizing 100 Hamsters (males and females), protocol number CEUA 2395260817, under the responsibility of **Cláudia Madalena Cabrera Mori and team; Denise Isoldi Seabra** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 09/13/2017.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **08/2017** a **08/2019**

Área: **Patologia Experimental E Comparada**

Origem: **Biotério do Departamento de Patologia da FMVZ USP**

Espécie: **Hamsters**

sexo: **Machos e Fêmeas**

idade: **8 a 8 semanas**

N: **100**

Linhagem: **Hamsters sírios**

Peso: **100 a 150 g**

Resumo: O presente projeto propõe o estudo de diferentes protocolos de anestesia multimodal, associando-se fármacos opioides e anti-inflamatórios não esteroides (AINEs), a fim de promover um refinamento das técnicas de anestesia injetável em hamsters para adequada analgesia intra e pós-cirúrgica, estabelecendo o protocolo mais seguro e efetivo, garantindo o bem-estar dos animais e a segurança do procedimento cirúrgico. A mensuração da dor será realizada pela avaliação de vocalização ultrassônica a partir do teste de formalina, tendo como ponto de referência a frequência de vocalização ultrassônica de 22khz produzida por ratos em eventos aversivos.

Local do experimento: Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ/USP)

São Paulo, 14 de setembro de 2017

Profa. Dra. Anneliese de Souza Traldi

Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

Claudia Madalena Cabrera Mori

Vice-Presidente

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo



São Paulo, 02 de julho de 2019
CEUA N [2395260817](#)

Ilmo(a). Sr(a).

Responsável: Cláudia Madalena Cabrera Mori

Área: Patologia Experimental E Comparada

Título da proposta: "Refinamento das técnicas de anestesia injetável em hamsters visando promover adequada analgesia intra e pós-cirúrgica".

Parecer Consubstanciado da Comissão de Ética no Uso de Animais FMVZ (ID 004892)

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, no cumprimento das suas atribuições, analisou e **APROVOU** a Alteração do cadastro (versão de 10/junho/2019) da proposta acima referenciada.

Resumo apresentado pelo pesquisador: "Solicitamos a alteração do título uma vez que os testes com formalina e vocalização ultrassônica, a fim de avaliar a analgesia pós-cirúrgica, não serão realizadas. "

Comentário da CEUA: "Aprovado a alteração de título."

Profa. Dra. Anneliese de Souza Traldi

Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Roseli da Costa Gomes

Secretária

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: SEABRA, Denise Isoldi

Título: **Refinamento das técnicas de anestesia injetável em hamsters**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental e Comparada da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho ao meu tio Carlos Eduardo Ferrari. Que acreditava no "efeito multiplicador". Que era um "cuidador" nato. Que não sabia ao certo se anjos existiam, mas que eu desconfio que ele era um deles...

Meu tio sempre foi uma pessoa muito generosa. Veio a esse mundo para fazer o bem e encher nossos corações de amor. E, como disse seu filho, Flávio Ferrari, *"agora essa generosidade encapsulada volta para o Universo e pode fazer de cada um de nós uma pessoa um pouquinho melhor"*.

Anjo ou não, meu tio cumpriu sua missão. Multiplicou-se.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, aos meus pais, Wanderley e Christina, pela criação, amor e incentivo que deram em toda a minha vida. Reconheço todos os esforços que fizeram para que eu pudesse me formar e, então, chegar até aqui. Toda minha admiração por vocês, que são meu exemplo e meu porto seguro. Obrigada por me ajudarem a me tornar a pessoa que sou hoje!

À minha irmã, Camila, pelo apoio nessa fase, quando, assim como meus pais, abriu mão de muitas coisas e, principalmente, de nosso tempo juntas. Sua força me enche de orgulho e inspiração!

Obrigada à vocês três por cuidarem de nossas meninas quando eu não pude dar a atenção que elas mereciam.

À minha tia, Zuleica Seabra Ferrari, por entender minha ausência nesses últimos meses e, em sendo a escritora da família, por ter me dado a honra de escrever a epígrafe dessa dissertação. Você sempre será minha "amadinha"!

Agradeço à minha orientadora, Claudia Mori, que me deu a oportunidade de me tornar uma profissional melhor. Obrigada por ter sido generosa nos ensinamentos e compreensiva, entendendo todos os malabarismos que precisariam ser feitos nesse período.

Agradeço aos meus amigos, Eduardo e Ana Tada, que me incentivaram a entrar na pós-graduação e me mostraram o caminho quando eu ainda não sabia para onde ir.

Agradeço a minha grande amiga, Márcia Carolina Millán Olivato, que foi meu próprio "*Jiminy Cricket*": uma companheira bem humorada, que teve um papel de conselheira, sempre com uma palavra amiga. Me manteve centrada quando eu mais precisei. Obrigada! Que possamos contar, sempre, uma com a outra e que essa amizade seja para a toda a vida!

À minha amiga, Samantha Favoretto pelas "discussões técnicas", sugestões e apoio. Tenho muita admiração por você e saiba que foi muito importante para mim!

Agradeço a todo o pessoal do laboratório por me receberem de braços abertos. Ao Dennis por estar sempre disponível para ajudar à todos do grupo, sempre com muito bom humor. Ao Danilo pela ajuda com a coleta de amostras e

troca de ideias na etapa final do trabalho. À Luciana Bandini por cuidar dos meus animais. E gostaria de agradecer, especialmente, à Mariana Aranha que se tornou uma amiga logo quando cheguei. Assim como a Claudia, você também foi sempre muito generosa comigo! Obrigada! Vocês formam um grupo unido e incrível com quem se trabalhar! Espero que possamos ter novas oportunidades no futuro.

Agradeço a clínica veterinária Fofinho, em especial à Dr^a Telma Ferrante, amiga de toda a vida de minha mãe, pelas ideias quanto as análises bioquímicas e hematológicas, e por doar seu tempo e seu espaço para o processamento das amostras. Você foi, mais uma vez, incrível!

Agradeço a IDEXX e a Arminda por fornecerem os materiais e equipamentos necessários para a realização das análises bioquímicas e hematológicas. O patrocínio de vocês foi fundamental para execução de parte importantíssima do projeto.

Agradeço ao colega Renato Picollo e a empresa DeltaLife pelo empréstimo "por tempo indeterminado" do monitor, permitindo a realização do projeto.

Ao professor Jorge Camilo Florio pelos ensinamentos em matemática estatística e por revisar parte dos meus resultados, me dando a orientação necessária.

Agradeço, também, à Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), em especial ao professor Alexandre Basso, pela compreensão nesse período, permitindo com que eu completasse esse trabalho.

À Milena, secretária do departamento, sempre muito paciente com os alunos e sempre muito eficiente. Você tornou tudo mais fácil, pode ter certeza!

Por último, mas não menos importante, um agradecimento especial aos animais utilizados em pesquisa, que dão suas vidas pela evolução do conhecimento e promessas de um futuro melhor!

"Frutifique o trabalho que continua aquele do Senhor, criador de humanos e animais." Zuleica Seabra Ferrari, 2019.

RESUMO

SEABRA, D. I. **Refinamento das técnicas de anestesia injetável em hamsters.** 2019. 130 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

Garantir uma conduta ética e humanitária aos animais é premissa básica na área de experimentação animal. Inclui-se aqui o estabelecimento de protocolos anestésicos que proporcionem segurança e bem-estar aos animais, com redução da porcentagem de óbitos. Considerando que os fármacos, individualmente, não possuem todas as propriedades necessárias para promover uma anestesia ideal, é interessante o estabelecimento de protocolos anestésicos multimodais a fim de potencializar as propriedades anestésicas e analgésicas das drogas e minimizar os efeitos adversos. Ainda, a maioria dos autores não menciona a administração de protocolos anestésicos com associação de mais de dois fármacos em pequenos roedores. Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar a segurança e a duração de dois protocolos de anestesia injetável em hamsters, com associação de fármacos anestésicos e analgésicos, bem como suas alterações em parâmetros bioquímicos e hematológicos. Ambas associações promoveram anestesia cirúrgica e se mostraram seguras para hamsters, sem ocorrência de óbitos. Entretanto, o protocolo AXCM promoveu uma anestesia de maior duração e menor período de indução e recuperação para ambos os sexos, parecendo ser mais adequada para hamsters do que o protocolo AXCT. Os machos levaram mais tempo para entrar em plano de anestesia cirúrgica e tiveram menor período de anestesia quando comparados com fêmeas. Em ambos os protocolos observamos que os parâmetros fisiológicos se mantiveram mais altos para as fêmeas durante todo o período anestésico. Ambas associações promoveram diminuição de saturação de oxigênio, a qual foi muito expressiva nas fêmeas do grupo AXCT e prontamente corrigida com a utilização de máscara de oxigênio. A queda de temperatura, crítica em pequenos roedores, foi controlada por meio do fornecimento de calor, tendo sido mínima e permanecendo estável. O monitoramento dos parâmetros fisiológicos por meio de equipamento adequado para a espécie mostra-se também como importante auxiliar na manutenção do bem-estar animal, permitindo uma pronta intervenção caso necessário. A hiperglicemia promovida pelo uso de agonistas de receptores α_2 -adrenérgicos, e mais discretamente pelo uso de cetamina e acepromazina, pode ser

prevenida ou reduzida a partir de um período de jejum curto de até quatro horas e não mais do que isso uma vez que os pequenos roedores possuem um metabolismo acelerado, estando muito suscetíveis a hipoglicemia. Por último, torna-se importante avaliar a trombocitopenia sob o ponto de vista clínico, uma vez que essa condição pode determinar um aumento no risco de sangramento durante procedimentos cirúrgicos.

Palavras-chave: Hamster. Anestesia. Meloxicam. Tramadol.

ABSTRACT

SEABRA, D. I. **Refinement of injectable anesthesia techniques in hamsters.**

2019. 130 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina

Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

Ensuring ethical and humane conduct for animals is a basic premise in the area of animal experimentation. This includes the establishment of anesthetic protocols that provide safety and welfare to animals, and reducing the percentage of deaths. Considering that drugs individually do not possess all the properties necessary to promote optimal anesthesia, it is interesting to establish multimodal anesthetic protocols in order to enhance the anesthetic and analgesic properties of drugs and minimize adverse effects. Still, most authors do not mention the administration of anesthetic protocols with the association of more than two drugs in small rodents. Thus, the objective of this work was to evaluate the safety and duration of two injectable anesthesia protocols in hamsters, with an association of anesthetic and analgesic drugs, as well as their alterations in biochemical and hematological parameters. Both associations promoted surgical anesthesia and proved safe for hamsters, with no deaths. However, the AXCM protocol promoted longer anesthesia and shorter induction and recovery period for both sexes, which seems to be more appropriate for hamsters than the AXCT protocol. Males took longer to enter the surgical anesthesia plan and had a shorter anesthetic period when compared to females. In both protocols, we observed that the physiological parameters remained higher for females throughout the anesthetic period. Both associations promoted decrease in oxygen saturation, which was very expressive in females of the AXCT group and promptly corrected with the use of oxygen mask. The temperature drop, critical in small rodents, was controlled by heat supply, having been minimal and remaining stable. Monitoring of physiological parameters by appropriate equipment for the species is also an important aid in maintaining animal welfare, allowing prompt intervention if necessary. Hyperglycemia promoted by the use of α_2 -adrenergic receptor agonists, and more discreetly by the use of ketamine and acepromazine, can be prevented or reduced from a short fasting period of up to four hours, since small rodents have an accelerated metabolism and are very susceptible to hypoglycaemia. Finally, it is important to evaluate thrombocytopenia from a clinical

point of view, as this condition may increase the risk of bleeding during surgical procedures.

Keywords: Hamster. Anesthesia. Meloxicam. Tramadol.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Doses recomendadas de anestésicos para roedores	25
Tabela 2 - Doses recomendadas de analgésicos para roedores	26
Tabela 3 - Características esperadas dos fármacos quando utilizados isoladamente	56
Tabela 4 - Valores de referência de parâmetros hematológicos em hamsters ..	63
Tabela 5 - Valores de referência de parâmetros bioquímicos em hamsters	64
Tabela 6 – Margem de segurança, reflexos e tempos de anestesia (minutos) de machos e fêmeas de hamsters submetidos aos protocolos anestésicos AXCT ou AXCM com e sem suporte de oxigênio	74
Tabela 7 - Valores bioquímicos de machos e fêmeas submetidos ao protocolo AXCM e valores do grupo controle	93
Tabela 8 - Valores hematológicos de machos e fêmeas do grupo controle e do grupo submetido ao protocolo AXCM	94

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Comparação dos tempos de indução, entre machos e fêmeas de hamsters, sem suporte de oxigênio	70
Gráfico 2 - Comparação dos tempos de anestesia e recuperação, entre machos e fêmeas de hamsters, submetidos ao protocolo AXCM, com ou sem suporte de oxigênio	71
Gráfico 3 - Comparação dos tempos de anestesia e recuperação, entre machos e fêmeas de hamsters, submetidos ao protocolo AXCT, com ou sem suporte de oxigênio	72
Gráfico 4 - Comparação dos tempos de anestesia e recuperação, com ou sem suporte de oxigênio, entre hamsters de mesmo sexo submetidos ao protocolo AXCM	73
Gráfico 5 - Comparação dos tempos de anestesia e recuperação, com ou sem suporte de oxigênio, entre hamsters de mesmo sexo submetidos ao protocolo AXCT	75
Gráfico 6 - Comparação dos tempos de indução, anestesia e recuperação, sem suporte de oxigênio, entre hamsters machos submetidos a protocolos distintos	76
Gráfico 7 - Comparação dos tempos de anestesia e recuperação, com suporte de oxigênio, entre hamsters machos submetidos a protocolos distintos	77
Gráfico 8 - Comparação dos tempos de indução, anestesia e recuperação, sem suporte de oxigênio, entre hamsters fêmeas submetidas a protocolos distintos	78
Gráfico 9 – Comparação dos tempos de anestesia e recuperação, com suporte de oxigênio, entre hamsters fêmeas submetidas a protocolos distintos	79
Gráfico 10 - Variação de parâmetros fisiológicos entre machos e fêmeas de hamsters submetidos ao protocolo AXCM sem suporte de oxigênio	80
Gráfico 11 - Variação de parâmetros fisiológicos entre machos e fêmeas de hamsters submetidos ao protocolo AXCM com suporte de oxigênio	81
Gráfico 12 - Variação de parâmetros fisiológicos entre machos de hamsters	

submetidos ao protocolo AXCM com ou sem suporte de oxigênio	82
Gráfico 13 - Variação de parâmetros fisiológicos entre fêmeas de hamsters submetidas ao protocolo AXCM com ou sem suporte de oxigênio	83
Gráfico 14 - Variação de parâmetros fisiológicos entre machos e fêmeas de hamsters submetidos ao protocolo AXCT sem suporte de oxigênio	84
Gráfico 15 - Variação de parâmetros fisiológicos entre machos e fêmeas de hamsters submetidos ao protocolo AXCT com suporte de oxigênio	85
Gráfico 16 - Variação de parâmetros fisiológicos entre machos de hamsters submetidos ao protocolo AXCT com ou sem suporte de oxigênio	86
Gráfico 17 - Variação de parâmetros fisiológicos entre fêmeas de hamsters submetidas ao protocolo AXCT com ou sem suporte de oxigênio	87
Gráfico 18 - Variação de parâmetros fisiológicos entre machos de hamsters submetidos ao protocolo AXCT ou AXCM sem suporte de oxigênio	88
Gráfico 19 - Variação de parâmetros fisiológicos entre machos de hamsters submetidos ao protocolo AXCT ou AXCM com suporte de oxigênio	89
Gráfico 20 - Variação de parâmetros fisiológicos entre fêmeas de hamsters submetidos ao protocolo AXCT ou AXCM sem suporte de oxigênio	90
Gráfico 21 - Variação de parâmetros fisiológicos entre fêmeas de hamsters submetidos ao protocolo AXCT ou AXCM com suporte de oxigênio	91
Gráfico 22 - Comparação de parâmetros hematológicos entre o grupo controle e o grupo AXCM	92
Gráfico 23 - Comparação de parâmetros bioquímicos entre o grupo controle e o grupo AXCM	93

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Esquema de comparação entre os grupos experimentais	67
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS

ACLAM	American college of laboratory animal medicine
AINEs	Anti-inflamatórios não esteroidais
ALP	Fosfatase alcalina
ALT	Aspartatoalaninotransferase
AST	Aspartatoaminotransferase
BUN	Ureia
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CK	Creatina quinase
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
COX-1	Cicloxigenase-1
COX-2	Cicloxigenase-2
CREA	Creatinina
EDTA	Ácido etileno diaminotetracético
FC	Frequência cardíaca
FMVZ	Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
FR	Frequência respiratória
g	Grama
GLU	Glicose
h	Hora
HCT	Hematócrito
HGB	Hemoglobina
IM	Intramuscular
IP	Intraperitoneal
IV	Intravenosa
Kg	Quilograma
LDH	Lactato desidrogenase
mg	Miligrama
mL	Mililitro
NMDA	N-metil D-aspartato
O ₂	Oxigênio
°C	Graus centígrados
PCR	<i>Polimerase Chain Reaction</i>
pH	Potencial hidrogeniônico
PLQ	Plaquetas
RBC	Eritrócitos
rpm	Rotações por minuto
SC	Subcutâneo
SNC	Sistema nervoso central
SO ₂	Saturação de oxigênio no sangue
USP	Universidade de São Paulo
VO	Via oral
WCB	Leucócitos

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	21
2 REVISÃO DE LITERATURA	27
2.1 HAMSTERS	27
2.2 VIA DE ADMINISTRAÇÃO	31
2.3 MONITORAMENTO ANESTÉSICO	32
2.4 SEDATIVOS E TRANQUILIZANTES	36
2.4.1 Fenotiazínicos	36
2.4.2 Agonistas de receptores α_2 -adrenérgicos	38
2.5 CETAMINA	42
2.6 MELOXICAM	47
2.7 TRAMADOL	53
2.8 HEMOGRAMA E BIOQUÍMICA	56
3. OBJETIVOS	64
3.1. OBJETIVO GERAL	64
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	64
4. MATERIAL E MÉTODOS	65
4.1 ANIMAIS	65
4.2 PROCEDIMENTO ANESTÉSICO	65
4.3 PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS e BIOQUÍMICOS	68
4.3.1 Hemograma	68
4.3.2 Bioquímica	68
5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	69
6 RESULTADOS	69
6.1 TEMPOS DE ANESTESIA	69
6.2 PARÂMETROS FISIOLÓGICOS	79
6.3 HEMATOLOGIA E BIOQUÍMICA	91
7. DISCUSSÃO	95
7.1 TEMPOS DE ANESTESIA	95
7.2 PARÂMETROS FISIOLÓGICOS	99
7.3 HEMATOLOGIA E BIOQUÍMICA	103
8 CONCLUSÕES	108

REFERÊNCIAS	111
APÊNDICES	124
APÊNDICE A – Ficha de registro de anestesia	125
APÊNDICE B – Dados estatísticos do teste t de <i>student</i> não pareado, monocaudal, referentes aos tempos de anestesia quando comparados machos e fêmeas submetidos ao mesmo protocolo.....	126
APÊNDICE C - Dados estatísticos do teste t de <i>student</i> não pareado, monocaudal, referentes aos tempos de anestesia quando comparados os grupos submetidos aos protocolos AXCM ou AXCT que receberam ou não suporte de oxigênio	127
APÊNDICE D – Dados estatísticos do teste t de <i>student</i> não pareado, monocaudal, referentes aos tempos de anestesia quando comparados animais submetidos a protocolos distintos	128
APÊNDICE E - Dados estatísticos do teste ANOVA de duas vias referentes aos parâmetros fisiológicos quando comparados os diferentes grupos submetidos ao protocolo AXCM	129
APÊNDICE F- Dados estatísticos do teste ANOVA de duas vias referentes aos parâmetros fisiológicos quando comparados os diferentes grupos submetidos ao protocolo AXCT	130

1 INTRODUÇÃO

Garantir uma conduta ética e humanitária é premissa básica na área de experimentação animal. Inclui-se aqui o estabelecimento de protocolos anestésicos que proporcionem a segurança e o bem-estar dos animais, com redução da porcentagem de óbitos.

Roedores são as espécies mais utilizadas em protocolos experimentais, os quais frequentemente envolvem a execução de procedimentos invasivos sendo necessária anestesia e analgesia adequadas uma vez que estes constituem potencial de infringir dor em diferentes graus e intensidades.

Existe uma aceitação geral da necessidade de refinarmos os experimentos, reduzindo ao mínimo a dor e o distresse que podem ser vivenciados quando animais são utilizados em pesquisa (FLECKNELL; THOMAS, 2015). O tratamento e a prevenção da dor, além de serem uma obrigação ética, são previstos em legislação nacional e em diretrizes internacionais. O *American College Of Laboratory Animal Medicine* (ACLAM) determina que os procedimentos nos quais se espera causar mais do que uma dor leve ou momentânea requer o uso apropriado de medidas para aliviá-la, a menos que seja cientificamente justificado e aprovado pelo comitê de ética (TURNER et al., 2016).

O manejo da dor também tem implicações importantes do ponto de vista científico e metodológico, e para a qualidade dos dados obtidos (WRIGHT-WILLIAMS et al., 2007; TURNER et al., 2016; JIRKOF, 2017). Esse gerenciamento requer a antecipação e prevenção da dor (analgesia preemptiva), bem como sua identificação e alívio, provendo cuidados pré-operatórios adequados (KOHN et al., 2007; STOKES; FLECKNELL; RICHARDSON, 2009). O uso de analgésicos antes do trauma cirúrgico demonstrou bloquear o estímulo nociceptivo do sistema nervoso central (SNC) e pode promover maior analgesia do que quando administrado após a cirurgia (DAHL; MOINICHE, 2004; COULTER et al., 2011; FLECKNELL, 2016; FOLEY et al., 2016). A medicina humana reconhece o vasto benefício do tratamento da dor na redução da resposta ao estresse e melhora na recuperação (KOHN et al., 2007). Quando um tecido sofre algum tipo de trauma a liberação de mediadores químicos pode levar a hiperalgesia e a uma condição denominada alodinia que é um aumento da excitabilidade de neurônios resultando em dor seguida de um estímulo que não seria, necessariamente, doloroso (JIRKOF, 2017).

Uma revisão recente a respeito do uso de protocolos de anestesia e analgesia envolvendo procedimentos invasivos em animais demonstrou que muitos estudos publicados não incluem medidas para o alívio da dor (JIRKOF, 2017). Menos de 25% dos roedores de laboratório recebem analgésicos no período pós-operatório e menos de 40% são anestesiados com agentes que tenham alguma propriedade analgésica (FLECKNELL; THOMAS, 2015; FLECKNELL, 2018a). A administração de analgésicos foi reportada em somente 14% dos estudos publicados entre 2000 e 2002 envolvendo roedores de laboratório submetidos a procedimentos experimentais potencialmente dolorosos (STOKES; FLECKNELL; RICHARDSON, 2009). Na revisão de 128 artigos que envolvem o uso de coelhos em protocolos cirúrgicos no período de 1995-1997 e no período de 2005-2007, observou-se um aumento no uso de analgésicos de 16% para 50%, entretanto, a analgesia mencionada, na maioria dos estudos, diz respeito a agentes anestésicos com alguma propriedade analgésica, não sendo utilizado um fármaco analgésico propriamente dito (COULTER et al., 2011). Um estudo de queimadura em hamsters fez uso de cetamina (7g/Kg), diazepam (não mencionada dose) e atropina para anestesia dos animais, bem como morfina (700mg/Kg) para tratamento analgésico, entretanto, o intervalo de administração desta última não foi especificado (DONG et al., 2015).

Uma das justificativas para o não uso de analgésicos ou anestésicos de forma adequada é que esses fármacos podem interferir de alguma maneira nos resultados experimentais (FLECKNELL, 2018a). Entretanto, o próprio processo doloroso pode influenciar a qualidade dos dados obtidos (BOURQUE et al., 2010; TAYLOR et al., 2016; JIRKOF, 2017) constituindo-se em um fator estressante que pode contribuir para a perda da homeostase e levar ao distresse. A dor e o trauma cirúrgico causam uma resposta endócrina com liberação de cortisol, catecolaminas e outros hormônios relacionados ao estresse o que pode provocar alterações fisiológicas e metabólicas, incluindo taquicardia, hipertensão, alterações imunológicas e hiperglicemia (KOHN et al., 2007), além de alterações da frequência respiratória e temperatura corporal (STOKES; FLECKNELL; RICHARDSON, 2009). A dor, quando não tratada, pode dificultar a cicatrização dos tecidos (JIRKOF, 2017) e seu alívio encoraja o animal a restabelecer sua alimentação normal, recuperando-se mais facilmente (FLECKNELL, 2018a). Assim, além de promover melhora na recuperação, os analgésicos reduzem os efeitos da resposta estressora nos dados

experimentais (KOHN et al., 2007).

Considerando que os fármacos, individualmente, não possuem todas as propriedades necessárias para promover uma anestesia ideal como amnésia, inconsciência, hipnose, analgesia, relaxamento muscular e imobilidade, é recomendável sua combinação de modo a refinar os protocolos e promover uma anestesia balanceada (MEYER; FISH, 2008; BOUGHERARA; BOUAZIZ, 2014). Essa prática, denominada anestesia multimodal, possibilita minimizar os efeitos adversos, reduzindo a dose individual necessária, o que torna o protocolo mais seguro. Ao mesmo tempo, a anestesia multimodal preserva o bem-estar do animal promovendo uma indução e recuperação mais suaves, e diminuindo a inflamação periférica (BUIRAGO et al., 2008; HEATLEY; HARRIS, 2009; BOUGHERARA; BOUAZIZ, 2014). Os anestésicos de modo geral deprimem o sistema cardiorrespiratório e mecanismos de termorregulação de forma dose-dependente, portanto, é importante que seja administrada somente a dose mínima para promover adequado plano anestésico (FLECKNELL, 2016). A administração de duas ou mais drogas, com farmacocinética e mecanismo de ação bem estabelecidos, pode resultar em um efeito sinérgico (JIRKOF, 2017).

Apesar de todas essas vantagens a maioria dos autores não menciona a administração de anestesia multimodal em seus artigos (STOKES; FLECKNELL; RICHARDSON, 2009; JIRKOF, 2017) existindo, ainda, pouca informação sobre a biodisponibilidade de fármacos anestésicos quando usados em combinação (MEYER; FISH, 2008). Pelo fato da maioria dos estudos serem realizados em ratos e camundongos, existe pouca informação disponível a respeito da eficácia de fármacos em hamsters, gerbils e cobaias. Isso pode ser explicado, principalmente, pelo avanço de técnicas de engenharia genética que tem aumentado sobremaneira a disponibilidade de diferentes modelos animais em ratos e camundongos, enquanto outras espécies de laboratório são menos estudadas.

Conforme observado nas Tabelas 1 e 2 as doses encontradas em literatura são apresentadas em um intervalo muito variável o que compromete a segurança em protocolos anestésicos injetáveis uma vez que não é possível alterar a profundidade anestésica após a administração inicial (LONGLEY, 2008). Em hamsters sírios a administração intraperitoneal (IP) de uma dose de 100-200mg/Kg de cetamina com 10mg/Kg de xilazina parece ter produzido nível adequado de anestesia (GAERTNER et al., 2008; FLECKNELL, 2016). O analgésico mais

frequentemente recomendado para utilização em hamsters é a buprenorfina em uma dose de 0,01 a 0,05mg/kg, a cada oito horas, por via subcutânea (SC) (KOHN et al., 2007). Não encontramos dados em literatura sobre associações de fármacos analgésicos e anestésicos, bem como, associações de mais de dois fármacos anestésicos para hamsters.

É importante ressaltar que fármacos injetáveis podem produzir diferentes efeitos, ainda que na mesma dose, na dependência da espécie, linhagem, sexo, genótipo, idade, composição corporal, estado nutricional e sanitário (BUITRAGO et al., 2008; TSUKAMOTO et al., 2015; FLECKNELL, 2016, 2018a). O horário de administração também pode influenciar na absorção do fármaco em decorrência do ciclo circadiano. Maiores períodos de sedação e anestesia foram observados quando os fármacos foram administrados no início da fase escura, o que pode ser explicado pela menor quantidade de alimento ingerida (TURNER et al., 2011).

Adicionalmente, o objetivo do estudo deve ser levado em consideração, uma vez que essas drogas podem influenciar nos resultados experimentais. Anti-inflamatórios não esteroidais (AINES) são recomendados para dor moderada, mas podem afetar significativamente a cascata inflamatória e confundir a interpretação dos dados de um estudo com foco na interação de citocinas (KOHN et al., 2007). Também foi demonstrada alteração de parâmetros bioquímicos em ratos com aumento de catecolaminas, corticosterona, hormônio do crescimento, vasopressina, renina, aldosterona e prolactina, bem como redução de hormônio folículo-estimulante, hormônio luteinizante e testosterona (BOUGHERARA; BOUAZIZ, 2014; FLECKNELL, 2016). Uma das associações mais utilizadas em roedores é a associação de cetamina e xilazina (BUITRAGO et al., 2008; TSUKAMOTO et al., 2015). A combinação produz hiperglicemia, aumento de frequência respiratória e diminuição dose-dependente na pressão sanguínea e no débito cardíaco, sugerindo forte influência cardíaca (WHITE; FIELD, 1987; MEYER; FISH, 2008; TSUKAMOTO et al., 2015; TANAKA et al., 2016). Não foram encontrados registros dos efeitos dos anestésicos e suas combinações, especificamente em parâmetros bioquímicos de hamsters, no entanto, pode-se esperar que sejam afetados de maneira semelhante a outras espécies de roedores (CLIFFORD; SIMMONS, 2018).

Por isso, um pré-requisito importante para definir protocolos experimentais reproduzíveis e padronizados é o registro adequado e completo de cada intervenção analgésica e anestésica.

Tabela 1 - Doses recomendadas de anestésicos para roedores

Agente	Camundongo		Rato		Cobaia		Hamster		Referência
	Dose (mg/Kg)	Via	Dose (mg/Kg)	Via	Dose (mg/Kg)	Via	Dose (mg/Kg)	Via	
Cetamina	80	IM	50	IM	40	IM	80	IM	GREEN et al., 1981
Cetamina/Xilazina	80/16	IP	80/12	IP	60/8	IP	80/16	IP	GREEN et al., 1981
Acepromazina	0,5-2,5	-	0,5-2,5	-	-	-	5	-	CANTWELL, 2001
Xilazina	5-10	-	1-5	-	-	-	5-10	-	CANTWELL, 2001
Cetamina/Xilazina	50-200 / 5-10	-	50-100 / 1-5	-	-	-	50-150 / 5-10	-	CANTWELL, 2001
Acepromazina	0,5-5	IM/SC/VO	0,5-2,5	IM/SC/VO	0,5-5	IM/SC/VO	0,5-5	IM/SC/VO	MAYER; MANS, 2018
Cetamina/Xilazina	60/6	IP	100/5	IP/IM	20-40/2	IM	80/5	IP/IM	MAYER; MANS, 2018
Acepromazina	2-5	IP/SC	2,5	IP/IM	0,5-1	IM	2,5	IP	FLECKNELL, 2009
Cetamina	100-200	IM	50-100	IP/IM	100	IM/IP	50-100	IP	FLECKNELL, 2009
Xilazina	5-10	IP	1-5	IP/IM	-	-	1-5	IP/IM	FLECKNELL, 2009
Cetamina/Acepromazina	100/5	IP	75/2,5	IP	100/5	IM	150/5	IP	FLECKNELL, 2009
Cetamina/Xilazina	80-100/10	IP	75-100/10	IP	40/5	IP	100-200/10	IP	FLECKNELL, 2009
Cetamina/Xilazina/Acepromazina	80-100/10/3	IP	40-50/2,5/0,75	IM	-	-	-	-	FLECKNELL, 2009
Acepromazina	2-5	IP/SC	2,5	IP/IM	0,5-1	IM	2,5	IP	FLECKNELL, 2016
Cetamina	100-200	IM	50-100	IP/IM	100	IM/IP	50-100	IP	FLECKNELL, 2016
Xilazina	5-10	IP	1-3	IP/IM	-	-	1-5	IM/IP	FLECKNELL, 2016
Cetamina/Acepromazina	100/5	IP	75/2,5	IP	100/5	IM	150/5	IP	FLECKNELL, 2016
Cetamina/Xilazina	80-100/10	IP	75-100/10	IP	40/5	IP	200/10	IP	FLECKNELL, 2016
Cetamina/Xilazina/Acepromazina	80-100/10/3	IP	40-50/2,5/0,75	IM	-	-	-	-	FLECKNELL, 2016
Acepromazina	-	-	-	-	-	-	0,5-1	IM	HEATLEY; HARRIS, 2009
Xilazina	-	-	-	-	-	-	5-10	SC/IM/IP	HEATLEY; HARRIS, 2009
Cetamina/Xilazina	-	-	-	-	-	-	50-100/5-10	IP	HEATLEY; HARRIS, 2009
Cetamina/Xilazina	90-150/7,5-16	IP	40-80/5-10	IM/IP	-	-	-	-	GAERTNER et al., 2008
Cetamina/Xilazina/Acepromazina	100/2,5/2,5	IM	40/8/4	IM	-	-	-	-	GAERTNER et al., 2008
Acepromazina	-	-	-	-	-	-	5	IP	WHITTAKER, 2010
Cetamina	-	-	-	-	-	-	100-200	IM	WHITTAKER, 2010
Xilazina	-	-	-	-	-	-	5	IM	WHITTAKER, 2010
Cetamina/Xilazina	-	-	-	-	-	-	200/10	-	GAD, 2007
Cetamina/Xilazina	-	-	-	-	-	-	80/5	-	LONGLEY, 2008

Fonte: Seabra (2019).

Tabela 2 – Doses recomendadas de analgésicos para roedores

Agente	Camundongo			Rato			Cobaia			Hamster			Referência
	Dose (mg/Kg)	Via	Intervalo	Dose (mg/Kg)	Via	Intervalo	Dose (mg/Kg)	Via	Intervalo	Dose (mg/Kg)	Via	Intervalo	
Carprofeno	20	SC	-	5	SC	-	4	SC	-	-	-	-	FLECKNELL, 2018a
Carprofeno	5	SC	12h	5	SC/VO	24h	4	SC	24h	5	SC	24h	FLECKNELL, 2018b
Cetoprofeno	20	SC	-	5	SC	-	-	-	-	-	-	-	FLECKNELL, 2018a
Meloxicam	5-20	SC	-	1	SC	-	0,2	SC	-	-	-	-	FLECKNELL, 2018a
Meloxicam	5	SC/VO	12h	1	SC/VO	24h	0,5-1	SC/VO	24h	-	-	-	FLECKNELL, 2018b
Morfina	1-5	SC	-	2-5	SC	-	5	SC	-	-	-	-	FLECKNELL, 2018a
Tramadol	80	SC	-	20-40	VO	-	-	-	-	-	-	-	FLECKNELL, 2018a
Tramadol	-	-	-	5	SC	-	-	-	-	-	-	-	FLECKNELL, 2018a
Carprofeno	5	SC	-	5	SC	-	4	SC	12-24h	-	-	-	MAYER; MANS, 2018
Carprofeno	5-10	VO	-	5-10	VO	-	-	-	-	-	-	-	MAYER; MANS, 2018
Cetoprofeno	5	SC	-	5	SC	-	1-3	SC/IM	12-24h	-	-	-	MAYER; MANS, 2018
Meloxicam	1-5	SC/VO	24h	1-2	VO	12-24h	0,1-0,3	SC/VO	24h	≥0,5	SC/VO	24h	MAYER; MANS, 2018
Tramadol	10-40	SC	12h	10-20	SC/VO	8-12h	-	-	-	-	-	-	MAYER; MANS, 2018
Meloxicam	5	SC/VO	-	1	SC/VO	-	0,1-0,3	SC/VO	24h	-	-	-	FLECKNELL, 2009
Carprofeno	5	SC	-	5	SC	-	4	SC	24h	-	-	-	FLECKNELL, 2009
Tramadol	5	SC/IP	-	5	SC/IP	-	-	-	-	-	-	-	FLECKNELL, 2009
Morfina	2,5	SC	2-4h	2,5	SC	2-4h	2,5	SC/IM	4h	-	-	-	FLECKNELL, 2009
Carprofeno	5	SC	-	5	SC	-	4	SC	24h	-	-	-	FLECKNELL, 2016
Meloxicam	5	SC/VO	-	1	SC/VO	-	0,1-0,3	SC/VO	24h	-	-	-	FLECKNELL, 2016
Carprofeno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	SC	12h	HEATLEY; HARRIS, 2009
Meloxicam	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1-2	IM/SC/VO	24h	HEATLEY; HARRIS, 2009
Carprofeno	-	-	-	5-15	SC	-	-	-	-	-	-	-	GAERTNER et al., 2008
Meloxicam	1-10	IP	-	1-4	SC/IP	-	-	-	-	-	-	-	GAERTNER et al., 2008
Morfina	10	SC	-	2-10	SC	-	-	-	-	-	-	-	GAERTNER et al., 2008
Tramadol	20-40	IP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	GAERTNER et al., 2008
Meloxicam	1-2	SC/VO	12-24h	1-2	SC/VO	12-24h	-	-	-	-	-	-	LONGLEY, 2008

Fonte: Seabra (2019).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 HAMSTERS

Inicialmente utilizados em protocolos de leishmaniose (SANTOS, 2002), o hamster sírio (*Mesocricetus auratus*) serviu de modelo para o estudo de diferentes aspectos da biologia nos últimos 50 anos (WOLD; TOTH, 2012). Apesar da quantidade utilizada atualmente ser bem inferior a década de 80, quando foi registrado o uso de cerca de 500.000 animais (VALENTINE et al., 2012), ainda hoje contribui em diversas áreas de pesquisa. A diminuição de sua utilização deve-se, em grande parte, ao aumento no número de linhagens de camundongos transgênicos. Entretanto, por possuírem características anatômicas e fisiológicas únicas, os hamsters tornam-se excelentes modelos biológicos (GAD; HESS, 2007).

Por terem um comportamento sociável é possível seu alojamento em grupos, reduzindo custos de manutenção. Seu tamanho possibilita uma melhor visualização de certos sistemas biológicos ao mesmo tempo que permite o desenvolvimento de tumores de maior volume, refletindo situações clínicas de forma mais fidedigna e facilitando alguns procedimentos cirúrgicos (WOLD; TOTH, 2012).

Um importante diferencial anatômico são suas bolsas gútuas, divertículos ou invaginações saculares distensíveis que se estendem sob a pele, da extremidade posterior da cavidade oral até o nível das escápulas, cuja principal função seria o armazenamento e transporte de alimentos (DULING, 1973; HEAD; BILLINGHAM, 1985; HOCHMAN et al., 2003, 2004). Essas estruturas, assim como a córnea, a câmara anterior do olho, o cérebro, o testículo e a próstata, são consideradas locais de privilégio imunológico naturais (HEAD; BILLINGHAM, 1985; HOCHMAN et al., 2003; SIMPSON, 2006; CLIFFORD; SIMMONS, 2018). Os locais de privilégio imunológico são caracterizados pela ausência ou deficiência de uma via anatômica aferente adequada para drenar material antigênico para uma região linfática que reconheceria o antígeno e iniciaria a resposta imune (HOCHMAN et al., 2004). Mais especificamente, o epitélio das bolsas gútuas apoia-se sob um subepitélio constituído por tecido conjuntivo frouxo com ausência de vasos linfáticos, exceto na região proximal, onde se inserem as fibras do músculo retrator da bolsa (HOCHMAN et al., 2003). A escassez de vasos linfáticos (BARKER; BILLINGHAM, 1970),

somada a um sistema imune intacto, faz com que o hamster torne-se um ótimo modelo para o estudo de xenotransplantes (WOLD; TOTH, 2012), em alguns casos preferível aos modelos murinos imunodeficientes já que esses demandam uma infraestrutura complexa de manutenção que previna a mortalidade e a morbidade dessas linhagens. Uma vez que hamsters são muito suscetíveis a diversos carcinógenos e desenvolvem tumores mais facilmente que outras espécies (VALENTINE et al., 2012), essas bolsas tornam-se sítios anatômicos muito utilizados em estudos de carcinogênese quimicamente induzida: um dos modelos mais aceitos para estudos de formação e progressão de tumores orais (VAIRAKTARIS et al., 2008; CLIFFORD; SIMMONS, 2018). Ainda, devido ao fato de essas estruturas serem altamente vascularizadas são muito utilizadas para estudo de microcirculação (SVENSJO, 1990; GAD; HESS, 2007).

Outras áreas de relevância em que essa espécie animal é utilizada são a periodontologia, endocrinologia, toxicologia, estudos comportamentais, estudos de doenças metabólicas, estudos de doenças respiratórias, estudos cardiovasculares, estudos de cicatrização, estudos de úlceras gástricas, estudos de hipercolesterolemia e de doenças infecciosas (SVENSJO, 1990; LAZO et al., 1990; YASUHARA et al., 1991; BISHOP, 1992; WONG et al., 1993; MAGERS et al., 1995; SOHN; DAGGY; ARJMANDI, 1999; WATTENBERG; WIEDMANN; ESTENSEN, 2004; SCHULZ; SISK, 2006; BORZONE et al., 2007; GAD; HESS, 2007; STRUILLLOU et al., 2010; FLORAS, 2011; VALENTINE et al., 2012; WOLD; TOTH, 2012; HARAGUCHI et al., 2014; SUAREZ, 2015; TANAKA et al., 2016; MAIO; DOWD, 2017). Recentemente se tornou possível gerar hamsters transgênicos ou knockouts (NAKAMURA et al., 2017).

O hamster se tornou um importante modelo para o estudo de parasitas, bactérias, príons e vírus muito possivelmente devido ao reduzido número de doenças espontâneas quando comparado a outros roedores de laboratório e por ser uma espécie altamente suscetível a diversas doenças infecciosas experimentalmente induzidas (HANKENSON; HOOSIER, 2002; MUNSON et al., 2012; SAFRONETZ et al., 2012). É única espécie animal que desenvolve a síndrome pulmonar por hantavírus de forma similar aos seres humanos, tanto com relação ao período de incubação quanto a fisiopatologia da doença (SAFRONETZ et al., 2012). Apresenta-se como modelo de preferência para o estudo da leptospirose devido sua suscetibilidade à infecção e reprodutibilidade dos resultados, sendo que

o quadro agudo da doença reproduz a forma severa da leptospirose humana em vários aspectos (HAAKE, 2006; CLIFFORD; SIMMONS, 2018).

É um modelo alternativo para o estudo de eficácia e segurança de vetores do adenovírus oncolítico, da patologia do adenovírus e para avaliação de eficácia de drogas antivirais uma vez que vários órgãos dessa espécie são suscetíveis a replicação, independentemente do seu hospedeiro natural (WOLD; TOTH, 2012).

Com relação ao sistema cardiovascular, os hamsters são um modelo de especial interesse no estudo da cardiomiopatia dilatada crônica (FLORAS, 2011; HARAGUCHI et al., 2014; TANAKA et al., 2016), isquemia de reperfusão (YASUHARA et al., 1991; VALENTINE et al., 2012) e, como dito anteriormente, estudos de microcirculação (SVENSJO, 1990).

Protocolos de úlceras gástricas induzidas por AINEs utilizam essa espécie animal em decorrência de seu tamanho reduzido quando comparada com coelhos. Ratos também foram utilizados porém desenvolveram úlceras intestinais profundas e apresentaram alta taxa de mortalidade (VALENTINE et al., 2012).

Diversos protocolos que fazem o uso de hamsters incluem procedimentos invasivos e, portanto, requerem que os animais sejam mantidos sob efeitos de tranquilizantes ou em plano de anestesia cirúrgica. É o caso do modelo de estudo do diabetes *mellitus* cujo procedimento cirúrgico consiste em envolver uma parte do pâncreas em celofane para indução de hipoglicemia hiperinsulinêmica ou nesidioblastose. Ou ainda o modelo de ovariectomia utilizado para o estudo de hipercolesterolemia pós-menopausa (SOHN; DAGGY; ARJMANDI, 1999; GAD; HESS, 2007; VALENTINE et al., 2012).

Alguns protocolos menos invasivos envolvem, por sua vez, a indução de feridas teciduais, a inoculação intracardíaca, intraocular ou intratraqueal, as quais também requerem anestesia. Modelos de cicatrização incluem o estabelecimento de feridas teciduais ou nas bolsas guturais (WONG et al., 1993). Modelos de enfisema pulmonar são induzidos pela inoculação intratraqueal de ácido hialurônico (BORZONE et al., 2007), mesma via de administração utilizada para o modelo de fibrose pulmonar (LAZO et al., 1990). A inoculação intracerebral ou intraocular é realizada em modelos de encefalopatias espongiiformes (KIMBERLIN; WALKER, 1986).

Já alguns protocolos envolvem somente imobilização, entretanto, devido a necessidade de um tempo de exposição prolongado torna-se necessário manter o

animal anestesiado. É o caso de estudos de toxicologia do trato reprodutivo por exposição ativa ou passiva a fumaça de cigarro, para os quais os hamsters têm demonstrado boa adaptação as máquinas de nebulização ao mesmo tempo que possuem trato reprodutivo em tamanho suficiente que permita adequada avaliação (MAGERS et al., 1995). Tumores de trato respiratório são induzidos pela inalação ou aplicação tópica de carcinógeno combinado com N-metilnitrosuréia diretamente na lesão tecidual sob anestesia geral (WATTENBERG; WIEDMANN; ESTENSEN, 2004; VALENTINE et al., 2012).

Protocolos que façam uso de instilação intranasal, como é o caso da infecção com adenovírus, ou a aplicação de carcinógeno químico na bolsa gutural (VALENTINE et al., 2012) requerem que animal esteja anestesiado, assim como em todos os estudos que envolvem o uso dessa estrutura anatômica (SVENSJO, 1990).

Apesar de os hamsters serem utilizados em diversos estudos que requerem anestesia observamos que mesmo com o decorrer do tempo os protocolos anestésicos não incluem a associação de fármacos analgésicos, bem como essas drogas não são mencionadas em cuidados pós-operatórios ou após a realização dos procedimentos experimentais. Ainda, muitos desses protocolos possuem pouco ou nenhum potencial analgésico. É o caso dos estudos de encefalopatias espongiiformes realizados a partir de inoculação intracerebral ou intraocular em animais anestesiados com éter ou halotano (KIMBERLIN; WALKER, 1986). Para a indução de feridas nas bolsas gutorais os animais foram anestesiados com éter (WONG et al., 1993). Para o ovariectomia foi administrado 100mg/Kg de cloridrato de cetamina em associação com 5mg/Kg xilazina (SOHN; DAGGY; ARJMANDI, 1999). Para o modelo de enfisema pulmonar foi administrado 45mg/100g de peso de hidrato de cloral (BORZONE et al., 2007). Nos estudos que envolvem carcinogênese quimicamente induzida os animais foram anestesiados com éter (VAIRAKTARIS et al., 2008). A inoculação intracardíaca de *Leishmania donovani* foi realizada após anestesia com halotano (WYLLIE; FAIRLAMB, 2006) ou pentobarbital sódico (DEA-AYUELA et al., 2007). Enxertos em bolsas gutorais foram realizados a partir da administração IP de 0,1mL/Kg de cloridrato de 2-(2,6-xilidino)-5,6-dihidro4H-1,3-tiazina e 0,075ml/Kg de cloridrato de cetamina (HOCHMAN et al., 2003).

2.2 VIA DE ADMINISTRAÇÃO

Para uma anestesia segura e eficiente podemos utilizar agentes anestésicos inalatórios ou injetáveis. Os agentes inalatórios têm como principais vantagens o controle da profundidade anestésica; menor biotransformação, minimizando interferência nas pesquisas; menor depressão cardiopulmonar e menor tempo de recuperação, aumentando sua segurança (BUIRAGO et al., 2008). Entretanto, além de serem mais caros, a exposição a esses agentes requer equipamentos específicos aos quais nem todos os pesquisadores têm fácil acesso. Esses fatores, somados à preocupação com a poluição ambiental e ao fato dos executores ficarem sujeitos a efeitos adversos decorrentes da exposição faz com que muitas vezes se opte por agentes injetáveis (WHITE; WAY; TREVOR, 1982; LONGLEY, 2008; MEYER; FISH, 2008). Ainda, muitos estudos conduzidos em hamsters envolvem estruturas da cavidade oral, como a bolsa gutural, dificultando o uso de máscaras inalatórias (NAKAMURA et al., 2017).

Para a grande maioria dos fármacos anestésicos a via intravenosa (IV) é a via de administração de eleição. Quando utilizada garante rápida concentração plasmática e evita o metabolismo hepático (MORTON et al., 2001). Entretanto, para pequenos roedores e em particular para hamsters, essa via requer mais habilidade, sendo de mais difícil acesso, uma vez que essa espécie possui uma cauda curta e a administração pela veia jugular necessita de maior contenção, submetendo o animal a um estresse mais acentuado. Esses aspectos têm que ser levados em consideração quando anestesiarmos animais de laboratório de modo a tentar minimizar potenciais efeitos adversos decorrentes dessas manipulações (TURNER et al., 2011). Portanto, a via IP acaba por ser a mais utilizada uma vez que permite a inoculação de volumes maiores e requer menor habilidade do que a via IV (FLECKNELL, 2009).

Sabe-se que a farmacocinética e a farmacodinâmica variam na dependência da via de administração (FLECKNELL, 2016). Em comparação com a inoculação IV, a via IP tem uma absorção quatro vezes mais lenta passando por metabolização hepática via sistema porta antes de atingir a circulação sistêmica, no chamado efeito de primeira passagem (HAJIGHAHRAMANI; VESAL, 2007; TURNER et al., 2011). Essa metabolização pode resultar em baixa concentração plasmática e em efeitos mais lentos, podendo ser necessárias doses maiores para atingir o mesmo índice

terapêutico. Além disso, efeitos residuais podem persistir e a recuperação completa pode ser mais prolongada (FLECKNELL, 2016). Importante ressaltar que o potencial hidrogeniônico (pH) das substâncias deve ser verificado pois fármacos irritantes, quando administrados intraperitonealmente, podem induzir a processos dolorosos e peritonite, com adesões subsequentes, como é o caso do hidrato de cloral. A fim de preservar o bem-estar dos animais, o volume máximo que pode ser administrado por essa via é definido em 10mL/Kg (MORTON et al., 2001; DIEHL et al., 2002) e quando ultrapassado pode resultar em dor e estresse respiratório (TURNER et al., 2011).

2.3 MONITORAMENTO ANESTÉSICO

O monitoramento anestésico garante que o animal seja mantido em um plano adequado de anestesia cirúrgica e que distúrbios fisiológicos sejam reconhecidos enquanto ainda são reversíveis, podendo resultar em uma melhora importante nas taxas de recuperação (HEAVNER; COOPER, 2008; FLECKNELL, 2016).

A profundidade anestésica é decorrente da influência dos fármacos no SNC e deve ser avaliada através de uma combinação de medidas pois o monitoramento de um único parâmetro pode levar a interpretações equivocadas (SMITH; DANNEMAN, 2008; FLECKNELL, 2016). Alguns dos parâmetros que devem ser observados incluem a frequência cardíaca (FC); a pressão sanguínea; o tempo de preenchimento capilar e a coloração de mucosa; o padrão e a profundidade de respiração; a temperatura; o tônus muscular e a resposta a estímulos dolorosos. A facilidade de monitorar o tônus mandibular varia com a espécie devido a diferenças no tamanho da mandíbula e a força do músculo masseter (HEAVNER; COOPER, 2008) sendo que um pouco do tônus, normalmente, irá permanecer (HEATLEY; HARRIS, 2009). Observa-se que poucos estudos monitoram de forma objetiva a profundidade anestésica de associações de cetamina e xilazina (BUIRAGO et al., 2008).

Os efeitos iniciais de agentes anestésicos são, normalmente, similares. Após a administração, a maioria dos animais apresenta ataxia e perda do reflexo de endireitamento, permanecendo imóvel (FLECKNELL, 2009). Nesse momento ainda são capazes de responder a estímulos dolorosos, de modo que a anestesia deve ser

aprofundada até que essas respostas sejam perdidas para a realização do procedimento cirúrgico.

A resposta a estímulos dolorosos é avaliada por meio de pressão em diversas áreas do corpo e observação da resposta gerada. Alguns dos reflexos monitorados incluem o reflexo interdigital, palpebral, corneal e auricular. O reflexo de retirada dos membros é comumente utilizado para determinar o nível de anestesia em pequenos animais de laboratório (HEAVNER; COOPER, 2008). O reflexo de retirada dos membros posteriores é monitorado através do pinçamento do espaço interdigital e estará ausente já em planos mais superficiais de anestesia, precedendo a ausência de reflexo dos membros anteriores. Sua perda normalmente é suficiente para o início do procedimento cirúrgico (FLECKNELL, 2016).

Apesar de haver uma orientação geral de que a resposta a estímulos dolorosos deva estar ausente em plano de anestesia cirúrgica, ressalta-se que essa perda não ocorre uniformemente em todas as áreas do corpo e embora os reflexos de retirada forneçam uma boa indicação da profundidade anestésica, o grau de supressão dessas respostas não é necessariamente paralelo à perda de consciência (HEATLEY; HARRIS, 2009; FLECKNELL, 2016). Perdas de reflexos são mediadas, principalmente, por reflexos espinhais e a profundidade da anestesia necessária para suprimir essas respostas é maior do que a necessária para a perda de consciência, assim, basear-se nesse parâmetro para avaliar a profundidade da anestesia pode resultar na manutenção de animais em planos mais profundos do que o necessário (HASKINS, 2015; FLECKNELL, 2016). Portanto, nem todos os reflexos precisam estar ausentes para considerarmos que o animal está anestesiado e as respostas autonômicas devem ser avaliadas concomitantemente (NAKAMURA et al., 2017). Muitas vezes um reflexo poderá estar presente, mas o estímulo não promove respostas autonômicas, indicando estar em plano adequado para o início do procedimento. O reflexo palpebral varia entre espécies e normalmente é perdido no início da anestesia, principalmente quando da administração de cetamina, barbitúricos e agentes inalantes, entretanto em coelhos pode se tornar ausente somente quando atingido um nível muito profundo (e indesejável) de anestesia (HEAVNER; COOPER, 2008; SMITH; DANNEMAN, 2008; FLECKNELL, 2009, 2016). A perda do reflexo corneal também sugere um plano anestésico muito profundo (HEATLEY; HARRIS, 2009). O reflexo auricular, por sua vez, pode ser observado em coelhos e cobaias (FLECKNELL, 2009, 2016).

A saturação de oxigênio também deve ser monitorada. Para tanto, podemos utilizar um oxímetro de pulso que irá realizar a mensuração a partir da medição de absorção de luz pelos tecidos, a qual é variável entre as espécies (FLECKNELL, 2016). Essa saturação está relacionada com a pressão parcial de oxigênio no sangue arterial e encontra-se adequada quando atingir um valor mínimo de 60mmHg o que corresponde a 90% de saturação (SMITH; DANNEMAN, 2008). A saturação de animais respirando ar ambiente se mantém em torno de 95-98% e a queda de mais de 5% indica o início de hipóxia que quando alcança 10% ou mais deve ser prontamente corrigida (HEAVNER; COOPER, 2008; FLECKNELL, 2009, 2016). Valores abaixo de 50% indicam hipóxia severa com risco da vida (FLECKNELL, 2016). O equipamento funciona melhor em locais sem pelo e não pigmentados, como as patas e caudas de roedores, e por ser altamente dependente de uma boa perfusão periférica, a hipotensão ou hipotermia, assim como uma vasoconstrição importante decorrente do uso de alguns agentes anestésicos como a cetamina, pode levar a queda de saturação (HEAVNER; COOPER, 2008). Outras causas da hipoxemia incluem depressão respiratória e obstrução de vias aéreas (FLECKNELL, 2016).

A coloração de mucosas é outro parâmetro que deve ser incluído no monitoramento anestésico. Sua alteração indica o início de uma hipóxia severa e só ocorre quando os níveis de saturação de oxigênio encontram-se abaixo de 50% (FLECKNELL, 2009, 2016; HASKINS, 2015). Assim, uma mucosa cianótica indica hipoxemia mas a falta de alteração de coloração não indica que o animal está adequadamente oxigenado (HEAVNER; COOPER, 2008). A cianose está mais frequentemente relacionada com falha respiratória e se decorrer de um problema cardiovascular isolado indica distúrbio circulatório severo (FLECKNELL, 2016).

Junto a esse parâmetro, o tempo de preenchimento capilar é um bom indicador de perfusão de tecidos periféricos e possível falha circulatória. Seu monitoramento pode ser realizado através de uma pressão na mucosa gengival, onde o tempo de preenchimento ideal deve ser entre 01 a 2,5 segundos (SMITH; DANNEMAN, 2008; FLECKNELL, 2016). Entretanto, esse é um parâmetro difícil de ser mensurado em pequenos roedores.

O monitoramento da frequência respiratória (FR), junto com a coloração de mucosa, é um bom indicativo da função respiratória. Uma queda de 50% ou mais na FR indica insuficiência respiratória iminente (FLECKNELL, 2016). A parada

respiratória normalmente precede o colapso cardiovascular (HEAVNER; COOPER, 2008; SMITH; DANNEMAN, 2008).

A maioria dos agentes anestésicos tem efeito depressor na função cardiovascular. A overdose é, provavelmente, a maior causa de falha cardíaca, mas também pode ser causada por hipóxia devido a falha respiratória (FLECKNELL, 2016). O monitoramento da frequência cardíaca (FC) permite identificar alterações: bradicardia conforme o plano se aprofunda ou taquicardia quando se torna superficial (HEAVNER; COOPER, 2008).

Da mesma forma, a maioria dos anestésicos causa uma depressão do mecanismo termorregulatório hipotalâmico, predispondo os animais a hipotermia. Esse efeito merece especial atenção em pequenos roedores pois possuem grande superfície corpórea em relação a massa corporal, levando a maior perda de calor (HEAVNER; COOPER, 2008; SMITH; DANNEMAN, 2008; HEATLEY; HARRIS, 2009; FLECKNELL; THOMAS, 2015; FLECKNELL, 2016). Em camundongos essa perda de calor pode se desenvolver rapidamente com redução de até 10°C decorridos 15 a 20 minutos de anestesia (FLECKNELL, 2016). A hipotermia é agravada em virtude de uma série de fatores inerentes a cirurgia como a remoção dos pêlos e assepsia da pele, administração de fluídos, menor temperatura ambiente e fornecimento de oxigênio (HASKINS, 2015).

Tanto o aumento quanto a diminuição de temperatura corporal podem potencializar os efeitos das drogas depressoras centrais e confundir dados experimentais, direta ou indiretamente, em virtude de seus efeitos em diversos processos biológicos (HEAVNER; COOPER, 2008; FLECKNELL, 2016). A hipotermia afeta a coagulação resultando em maior tempo de sangramento o que pode aumentar a necessidade de transfusões sanguíneas; promove efeito imunossupressor; reduz o fluxo sanguíneo renal e a taxa de filtração glomerular; altera o metabolismo proteico e aumenta o risco de desenvolvimento de infecções na ferida cirúrgica (SHEFFIELD; SESSLER; HUNT, 1994; KUMAR et al., 2005; SCOTT; BUCKLAND, 2006; HASKINS, 2015). A hipotermia, ainda, demonstrou alterar a taxa de implantação em transferência embrionária de camundongos (BAGIS; ODAMAN MERCAN; DINNYES, 2004). Causa frequente de óbito decorrente de anestesia, ela prolonga o tempo de recuperação e potencializa anestésicos voláteis, podendo resultar em parada cardíaca quando atinge um valor aproximado de 25°C (FLECKNELL, 2009, 2016). Pode ter um efeito protetor reduzindo a taxa de

metabolismo basal e o consumo de oxigênio e, conseqüentemente, o risco de hipóxia e isquemia (SHEFFIELD; SESSLER; HUNT, 1994; SCOTT; BUCKLAND, 2006). Assim, torna-se importante disponibilizar uma fonte de calor durante o período anestésico até a recuperação total do animal, tomando o cuidado com o superaquecimento e queimaduras.

2.4 SEDATIVOS E TRANQUILIZANTES

Sedativos e tranquilizantes são fármacos utilizados para promover a contenção química durante a realização de procedimentos não invasivos, como medicação pré-anestésica ou em associação a protocolos anestésicos. O uso desses agentes apresenta diversas vantagens como a promoção de uma indução e recuperação anestésica suave, a redução da resposta simpática à estimulação cirúrgica, a redução na quantidade necessária de anestésicos e a diminuição do tônus muscular (BAGATINI et al., 2002; GAERTNER et al., 2008; HEAVNER; COOPER, 2008; HEATLEY; HARRIS, 2009; CORTOPASSI; FANTONI, 2010; RANKIN, 2015). Os efeitos variam na dependência da espécie animal, do fármaco e da dose utilizada. Os fenotiazínicos, os benzodiazepínicos, os agonistas de receptores α_2 -adrenérgicos, as butirofenonas e os opióides são frequentemente utilizados com esses objetivos (CORTOPASSI; FANTONI, 2010; RANKIN, 2015). Os sedativos mais indicados para hamsters incluem a acepromazina, o diazepam, o midazolam e a xilazina (HEATLEY; HARRIS, 2009).

2.4.1 Fenotiazínicos

Os fenotiazínicos, grupo do qual faz parte a acepromazina, agem em uma variedade de receptores incluindo adrenérgicos, muscarínicos, dopaminérgicos, serotoninérgicos e receptores de histamina e têm, portanto, uma ampla gama de efeitos centrais e periféricos (HALL; CLARKE; TRIM, 2001; CORTOPASSI; FANTONI, 2010; RANKIN, 2015; SPINOSA; GÓRNIK, 2017). Os efeitos sedativos são mediados primariamente pelo bloqueio de receptores de dopamina (especificamente receptores D2), mas o bloqueio dos receptores α_1 -adrenérgicos, muscarínicos e histamínicos (H1) também pode desempenhar um papel na sedação. O bloqueio de receptores α_1 -adrenérgicos resulta em hipotensão arterial e queda na

temperatura corporal decorrente de uma vasodilatação periférica, principais efeitos adversos relacionados a esse grupo de medicamentos (CORTOPASSI; FANTONI, 2010). Já o bloqueio de receptores dopaminérgicos no sistema tuberoinfundibular leva ao aumento na secreção de prolactina, diminuição de hormônios hipotalâmicos e hipotermia (SPINOSA; GÓRNIAK, 2017).

A acepromazina é um dos sedativos mais utilizados em medicina veterinária (RANKIN, 2015). Com o nome químico de 2-acetil-10-(3-dimethylaminopropil)-fenotiazina, possui marcantes propriedades sedativas como o relaxamento muscular (HALL; CLARKE; TRIM, 2001). Como todos os fármacos do grupo dos fenotiazínicos, a acepromazina não possui propriedades analgésicas, sendo normalmente administrada em associação com opióides para promover neuroleptoanalgesia: um estado de sedação e analgesia (RANKIN, 2015; FLECKNELL, 2016).

Baixas doses afetam o comportamento e altas doses aumentam a sedação atingindo rapidamente um platô após o qual o aumento da dose não aumenta a sedação, mas apenas prolonga a mesma, ao mesmo tempo que aumenta os efeitos adversos, podendo ocasionar efeitos extrapiramidais como tremor, coma, catalepsia e rigidez (HALL; CLARKE; TRIM, 2001; CORTOPASSI; FANTONI, 2010). A duração do efeito pode ser longa e não existe agente de reversão específico para a acepromazina (RANKIN, 2015).

Além do efeito central de hipotermia, a acepromazina promove, ainda, um moderado efeito antiemético, reduzindo a incidência de vômitos de 45% para 18% quando administrada 15 minutos antes dos opióides, o que é particularmente útil na terapia com esses fármacos em espécies que vomitam (HALL; CLARKE; TRIM, 2001; KUKANICH; WIESE, 2015).

Em todas as espécies a acepromazina causa uma queda na pressão arterial dose-dependente que, como dito anteriormente, é mediada pela vasodilatação decorrente do bloqueio de receptores α_1 -adrenérgicos periféricos (HALL; CLARKE; TRIM, 2001; CORTOPASSI; FANTONI, 2010; FLECKNELL, 2016; SPINOSA; GÓRNIAK, 2017). A queda na resistência vascular e na pressão sanguínea são os principais efeitos adversos observados, os quais são bem tolerados em animais saudáveis, mas em animais hipovolêmicos ou em choque podem ser fatais (HALL; CLARKE; TRIM, 2001), tornando-se muito importante o monitoramento da pressão sanguínea durante a anestesia.

Doses clínicas afetam minimamente a frequência cardíaca e a respiração. Apesar de diminuir a frequência respiratória, o volume corrente é aumentado para manter a ventilação adequada e com isso os gases sanguíneos e o pH não são afetados (HALL; CLARKE; TRIM, 2001). O aumento de frequência cardíaca pode ocorrer de forma compensatória à queda na resistência vascular e na pressão sanguínea (RANKIN, 2015). A acepromazina tem efeitos antiarrítmicos protegendo contra a fibrilação induzida pela adrenalina (o que pode ser uma vantagem quando o fármaco estiver sendo utilizado como mediação pré-anestésica) (HALL; CLARKE; TRIM, 2001; CORTOPASSI; FANTONI, 2010; SPINOSA; GÓRNIAK, 2017). Reduz a liberação de dopamina e noradrenalina no sistema nervoso central, reduzindo o limiar da ocorrência de crises epiléticas, devendo ser evitada em animais com histórico de convulsões (HALL; CLARKE; TRIM, 2001; CORTOPASSI; FANTONI, 2010; SPINOSA; GÓRNIAK, 2017).

Efeitos hematológicos incluem diminuição do volume globular (PCB) e redução de agregação plaquetária (CORTOPASSI; FANTONI, 2010; RANKIN, 2015).

2.4.2 Agonistas de receptores α_2 -adrenérgicos

Os receptores α_2 -adrenérgicos estão distribuídos pelo corpo, no tecido nervoso, na maioria dos órgãos e extra-sinapticamente no tecido vascular (BAGATINI et al., 2002; HEAVNER; COOPER, 2008; RANKIN, 2015). A localização em diversas áreas leva a uma variedade de efeitos fisiológicos, alguns deles adversos (HEAVNER; COOPER, 2008). Os efeitos centrais de agonistas de receptores α_2 -adrenérgicos superam os efeitos periféricos (RANKIN, 2015).

Atualmente, três subtipos de receptores α_2 -adrenérgicos estão descritos, tendo sua nomenclatura sido baseada em estudos farmacológicos (α_2A , α_2B e α_2C) ou em estudos de biologia celular, os quais usam como critério a localização cromossômica do gene (α_2C2 , α_2C4 e α_2C10) (BAGATINI et al., 2002). Os receptores α_2A (ou α_2C10) estão localizados no córtex cerebral e no tronco cerebral e são os principais receptores relacionados com sedação e analgesia supra-espinal, além de promoverem bradicardia e hipotensão centralmente mediadas. Os receptores α_2B (ou α_2C4) estão localizados na medula espinal e no endotélio vascular e sua estimulação leva a analgesia, vasoconstrição e bradicardia

periféricamente mediada. Os receptores α_{2c} (ou α_{2C2}) também estão localizados na medula espinhal, modulando a analgesia espinhal e possivelmente a termorregulação (MEYER; FISH, 2008; RANKIN, 2015). Um quarto subtipo refere-se aos receptores α_{2D} , os quais parecem ser similares aos α_{2A} em função e distribuição (RANKIN, 2015).

A lipossolubilidade desses fármacos permite que atravessem a barreira hematoencefálica distribuindo-se pelo sistema nervoso central e interagindo com receptores α_{2} -medular e α_{2} -supramedular (BAGATINI et al., 2002; HEAVNER; COOPER, 2008).

No sistema nervoso central os agonistas de receptores α_{2} -adrenérgicos levam a sedação, analgesia e relaxamento muscular, além de promoverem bradicardia (CURL; PETERS, 1983; CURL, 1988; LICHTENBERGER; KO, 2007; GAERTNER et al., 2008; HEAVNER; COOPER, 2008; RANKIN, 2015; FLECKNELL, 2016; SPINOSA; GÓRNIK, 2017). Periféricamente, e ao contrário dos fenotiazínicos, promovem aumento da resistência vascular com conseqüente hipertensão (CURL; PETERS, 1983; CURL, 1988; RANKIN, 2015). Os efeitos analgésicos são mediados pela ativação de receptores no corno dorsal da medula espinhal (HEAVNER; COOPER, 2008) e variam entre as espécies, mas na maioria das vezes produzem analgesia suave a moderada (FLECKNELL, 2016). A sedação resulta do estímulo a receptores α_{2} centrais, com diminuição dos níveis de noradrenalina (GREENE; THURMON, 1988; BAGATINI et al., 2002; MEYER; FISH, 2008). A falha na sedação pode ser observada em animais excitados, com medo, dor ou quando estressados, resultando em aumento dos níveis de catecolaminas circulantes que podem ser difíceis de serem sobrepostos com medicação. Apesar da profunda sedação é importante ressaltar que os animais podem ser muito sensíveis ao toque e ao som, devendo-se tomar cuidado com barulhos ou movimentos bruscos (RANKIN, 2015). Ainda, o aumento da dose prolonga a sedação sem aumentar a analgesia (MEYER; FISH, 2008).

Agonistas de receptores α_{2} -adrenérgicos têm a vantagem de serem reversíveis com a administração de antagonistas seletivos. Alguns desses agentes são a ioimbina, tolazolina, atipamezole e idazoxam (GREENE; THURMON, 1988; GAERTNER et al., 2008; HEAVNER; COOPER, 2008; FLECKNELL, 2016). Dentre eles a tolazolina é mais efetiva para hamsters e gerbils do que para ratos (HEATLEY; HARRIS, 2009; RANKIN, 2015).

Os fármacos dessa classe também atuam sob receptores α_1 -adrenérgicos em maior ou menor grau, promovendo excitação e aumento da atividade motora. Portanto, quanto menos seletiva para os receptores α_2 -adrenérgicos for a droga, maior a probabilidade de causar rigidez ou excitação, bem como de antagonizar os efeitos nos receptores α_2 (BAGATINI et al., 2002).

Dentro deste grupo temos a xilazina, um potente agente hipnótico com propriedades de relaxamento muscular (GREEN et al., 1981) e analgesia visceral (SPINOSA; GÓRNIK, 2017). Desenvolvida em 1962, demonstrou efeitos depressivos no SNC nos estudos clínicos com humanos, sendo introduzida na veterinária para promover sedação, analgesia e relaxamento muscular desde 1968 (GREENE; THURMON, 1988; HALL; CLARKE; TRIM, 2001). Inicialmente utilizada em bovinos, sua aplicação rapidamente se estendeu para outras espécies (RANKIN, 2015).

A administração de xilazina sensibiliza o miocárdio às catecolaminas levando a uma bradicardia reflexa persistente (HAJIGHAHRAMANI; VESAL, 2007; GAERTNER et al., 2008; MEYER; FISH, 2008) a qual é comum e pode ser tratada com anticolinérgicos quando necessário. O débito cardíaco diminui de forma secundária à redução de frequência cardíaca na tentativa de manter a pressão sanguínea em face do aumento da resistência vascular sistêmica (GAERTNER et al., 2008; MEYER; FISH, 2008). Os efeitos no débito cardíaco e na pressão sanguínea são variáveis com a espécie e com a via de administração (GREENE; THURMON, 1988), sendo que a administração intramuscular tende a ter menos impacto nesses parâmetros, apesar de, na maioria dos indivíduos, ainda ser significativa (RANKIN, 2015).

Produz significativa arritmia cardíaca em todas as espécies, interferindo com a atividade elétrica normal no coração (CURL; PETERS, 1983; CURL, 1988; GREENE; THURMON, 1988), especialmente após a administração intravenosa (GREEN et al., 1981). Devido aos seus efeitos no sistema cardiovascular, altas doses devem ser reservadas a pacientes saudáveis e normovolêmicos (HAJIGHAHRAMANI; VESAL, 2007; LICHTENBERGER; KO, 2007).

Promove diminuição na frequência respiratória, mas os gases sanguíneos e o pH permanecem inalterados pois o volume corrente aumenta à medida que a frequência respiratória diminui, mantendo a ventilação (GREENE; THURMON, 1988;

BAGATINI et al., 2002; RANKIN, 2015). Portanto, os efeitos no sistema respiratório são menos expressivos do que os efeitos cardiovasculares.

Pode promover a salivação, estimular a êmese e o refluxo gástrico. A motilidade gastrointestinal é reduzida assim como o fluxo sanguíneo intestinal, ressaltando o impacto desses fármacos na irrigação desses órgãos (RANKIN, 2015).

Outros efeitos adversos incluem: redução da liberação de insulina, inibição do hormônio antidiurético, aumento de filtração glomerular resultando em aumento da produção de urina, hipotermia, supressão de secreção gástrica, alterações nos níveis de hormônio do crescimento, testosterona, prolactina e hormônio folículo estimulante (GREENE; THURMON, 1988; HEAVNER; COOPER, 2008; MEYER; FISH, 2008; SPINOSA; GÓRNIK, 2017).

Em um modelo murino de epilepsia a xilazina teve efeito convulsivante em baixas doses (3mg/Kg) e anticonvulsivante em altas doses (20mg/Kg) (GREENE; THURMON, 1988; HEAVNER; COOPER, 2008). Camundongos que receberam dexmetomidina apresentaram lesão neuronal atenuada e função neurológica preservada após interrupções experimentais no fluxo sanguíneo do cordão umbilical, o que corrobora a observação clínica de que essa classe de drogas pode ser usada em pacientes com doença neurológica (RANKIN, 2015). A xilazina utilizada sozinha ou em combinação foi identificada como agente causador de catarata aguda, reversível, em roedores, entretanto essa condição pode ser facilmente prevenida com o uso de gel lubrificante durante a anestesia (CALDERONE; GRIMES; SHALEV, 1986).

Existe uma variação de sensibilidade à xilazina entre as espécies, sendo, os bovinos, dez vezes mais sensíveis do que cães e equinos (MEYER; FISH, 2008). A variação na especificidade por receptores α_2 ou α_1 pode explicar algumas das diferenças clínicas observadas. Dentre os agentes farmacológicos pertencentes a esse grupo a xilazina é a menos específica apresentando uma taxa de ligação com receptores α_2 em relação com receptores α_1 de 160:1, enquanto as taxas de ligação da dexmedetomidina, medetomidina, detomidina e clonidina são de 1600, 1620, 260 e 220, respectivamente (BAGATINI et al., 2002; MEYER; FISH, 2008; RANKIN, 2015; FLECKNELL, 2016). Apesar disso, a xilazina é um dos agentes mais utilizados em animais de laboratório uma vez que até recentemente era o único fármaco deste grupo comercializado no Brasil.

Normalmente é associada a anestésicos dissociativos ou opióides a fim de promover anestesia cirúrgica e neuroleptoanalgesia, respectivamente (MEYER; FISH, 2008; RANKIN, 2015; FLECKNELL, 2016).

2.5 CETAMINA

A cetamina surgiu na década de 1960 sendo o agente mais utilizado para anestésiar animais de laboratório no mundo inteiro, em parte devido ao fato de apresentar ampla margem de segurança e em parte pela possibilidade de ser administrada por diversas vias além da intravenosa (GREEN et al., 1981; FLECKNELL; THOMAS, 2015; FANTONI; CORTOPASSI; BERNARDI, 2017). Apesar de poder ser inoculada pelas vias intravenosa, intramuscular ou intraperitoneal, a administração intramuscular em pequenos roedores pode ocasionar dor, desconforto e reações teciduais, como necrose. Esses efeitos decorrem das altas doses e elevados volumes requeridos para imobilização ou anestesia, bem como devido ao seu baixo pH (3,4 a 4,1) (GREEN et al., 1981; MEYER; FISH, 2008; FLECKNELL, 2016; FANTONI; CORTOPASSI; BERNARDI, 2017). Em ratos e coelhos pode causar falha cardiopulmonar quando administrada pela via intravenosa (GREEN et al., 1981).

Classificada como um anestésico dissociativo e simpatomimético, a cetamina promove dissociação do meio, em resposta a interrupção de impulsos nervosos para o córtex cerebral, deprimindo seletivamente alguns centros cerebrais e induzindo a um estado de catalepsia (WHITE; WAY; TREVOR, 1982; MEYER; FISH, 2008; FLECKNELL, 2016). Alguns dos mecanismos envolvidos são a inibição eletrofisiológica das vias talamocorticais e a estimulação do sistema límbico, podendo desencadear fenômenos epileptiformes (MEYER; FISH, 2008; VALADÃO, 2010; BERRY, 2015).

É um fármaco derivado da fenciclidina e análogo da ciclohexamina (GREEN et al., 1981; MEYER; FISH, 2008). Interage com receptores NMDA (*N*-metil d-aspartato), não NMDA, receptores nicotínicos, muscarínicos e monoaminérgicos, bem como com receptores opióides (WHITE; WAY; TREVOR, 1982; HIROTA et al., 1999; MEYER; FISH, 2008; VALADÃO, 2010; BERRY, 2015). Sua ação como antagonista de receptores NMDA é a que mais contribui para seus efeitos analgésicos uma vez que esses receptores têm um papel importante na

sensibilização central (LICHTENBERGER; KO, 2007; MEYER; FISH, 2008). A ligação com receptores opiáceos determina sua competição com analgésicos narcóticos e compostos endógenos semelhantes a morfina (WHITE; WAY; TREVOR, 1982).

A presença de um átomo de carbono assimétrico produz dois isômeros (R(-) e S(+)) que diferem em potência anestésica e atividade farmacológica. As misturas comerciais de cetamina consistem de partes iguais desses isômeros, sendo denominada de cetamina racêmica. O isômero S(+) já está disponível comercialmente em sua forma pura em alguns países, produzindo duas vezes mais analgesia do que a mistura racêmica (HIROTA et al., 1999). Além disso, promove uma metabolização e recuperação mais rápidas, menor salivação e maior margem de segurança, sendo quatro vezes mais potente que o isômero R(-) como analgésico e uma vez e meia mais potente com relação aos efeitos hipnóticos (WHITE; WAY; TREVOR, 1982; MEYER; FISH, 2008; VALADÃO, 2010; BERRY, 2015).

O nível de analgesia é variável intra e interespecies (LICHTENBERGER; KO, 2007) indo de uma profunda analgesia em primatas do velho mundo até uma fraca analgesia em roedores (GREEN et al., 1981; FLECKNELL, 2016; FANTONI; CORTOPASSI; BERNARDI, 2017). Apesar disso, tem demonstrado prevenir a sensibilização a estímulos nocivos durante a cirurgia (FLECKNELL, 2016). A cetamina promove analgesia intensa no sistema músculo-esquelético (MEYER; FISH, 2008; FANTONI; CORTOPASSI; BERNARDI, 2017). A analgesia se prolonga além do período de anestesia mesmo em doses sub-anestésicas (WHITE; WAY; TREVOR, 1982). Isso é explicado pelo fato de que as doses de cetamina necessárias para bloquear os receptores NMDA são consideravelmente menores do que as doses necessárias para induzir anestesia cirúrgica (VALADÃO, 2010). Da mesma forma, a hipotensão, a bradicardia e a hipotermia foram mantidas após a recuperação anestésica de ratos anestesiados com uma associação de cetamina (50mg/Kg) e xilazina (10mg/Kg) (PICOLLO et al., 2012).

Os animais permanecem com os olhos abertos e apresentam um leve nistagmo, ao mesmo tempo que mantém os reflexos corneal, palpebral e laringotraqueal, o que pode levar a dificuldade de monitoramento da profundidade anestésica (WHITE; WAY; TREVOR, 1982; ALONSO et al., 2007; HAJIGHAHRAMANI; VESAL, 2007; MEYER; FISH, 2008; VALADÃO, 2010; FLECKNELL, 2016). O lacrimejamento é diminuído e isso, somado ao fato de os

olhos permanecerem abertos, pode promover ressecamento da córnea a menos que os olhos sejam protegidos com um gel oftálmico (HEATLEY; HARRIS, 2009; FLECKNELL, 2016).

A cetamina não promove relaxamento muscular, podendo aumentar o tônus e promover espasmos musculares (GREEN et al., 1981; WHITE; WAY; TREVOR, 1982; CURL; PETERS, 1983; HAJIGHAHRAMANI; VESAL, 2007). O aumento no tônus muscular pode levar a tremores e até mesmo convulsões tônico-clônicas (GREEN et al., 1981). A extensão muscular rígida, tônica e espástica evidencia a estimulação do SNC, semelhante a quadros convulsivos (VALADÃO, 2010).

As secreções salivares e brônquicas são aumentadas (GREEN et al., 1981; WHITE; WAY; TREVOR, 1982; CURL; PETERS, 1983; VALADÃO, 2010; FLECKNELL, 2016), por isso a obstrução de vias aéreas configura-se um risco significativo.

A cetamina promove uma rápida indução e retorno de consciência. Por não se ligar a proteínas plasmáticas deixa rapidamente a corrente sanguínea, sendo distribuída, inicialmente, para tecidos ricamente vascularizados, como o cérebro, onde sua alta lipossolubilidade garante rápida transferência através da barreira hematoencefálica (WHITE; WAY; TREVOR, 1982; MEYER; FISH, 2008; BERRY, 2015). É, então, redistribuída do SNC para outros tecidos, menos vascularizados, em um tempo médio de 7 a 11 minutos (WHITE; WAY; TREVOR, 1982; MEYER; FISH, 2008). O pico de concentração plasmática é atingido um minuto após a administração intravenosa (MEYER; FISH, 2008; BERRY, 2015). O curto período de ação pode ser justificado pela sua facilidade em atravessar as barreiras orgânicas (VALADÃO, 2010).

Com uma meia-vida de duas a três horas, grande fração da cetamina permanece de forma inalterada nos tecidos tornando importante os possíveis efeitos cumulativos e interação com outros fármacos. Nesse sentido, o halotano demonstrou diminuir a distribuição e a redistribuição de cetamina, bem como inibir o metabolismo hepático, contribuindo para o prolongamento dos efeitos desta no SNC (WHITE; WAY; TREVOR, 1982). Nessa situação, portanto, ocorre diminuição da dose necessária de halotano para a promoção de anestesia. Ainda, agentes adjuvantes, como o diazepam, mostraram prolongar o tempo de meia-vida e atrasar a recuperação de anestesia por cetamina (WHITE; WAY; TREVOR, 1982).

É metabolizada pelo fígado onde sofre N-demetilação via citocromo P450 (principalmente pela ação da CYP3A4) com formação do metabólito norcetamina, que possui um terço da potência da cetamina (WHITE; WAY; TREVOR, 1982; VALADÃO, 2010; BERRY, 2015; FANTONI; CORTOPASSI; BERNARDI, 2017). Por ser excretada pela via renal, uma redução da função desse órgão pode promover ação prolongada (MEYER; FISH, 2008).

A administração crônica de cetamina em animais de laboratório pode levar ao aumento de atividade das enzimas hepáticas, incluindo aquelas envolvidas com sua metabolização, podendo alterar a resposta à droga e induzir a tolerância (MEYER; FISH, 2008; FLECKNELL, 2016). A tolerância também pode se desenvolver após uma única administração (WHITE; WAY; TREVOR, 1982).

Promove estímulo direto das funções cardiovasculares com aumento de frequência cardíaca, débito cardíaco, pressão sanguínea, contratilidade do miocárdio e resistência vascular periférica (WHITE; WAY; TREVOR, 1982; HAJIGHAHRAMANI; VESAL, 2007; LICHTENBERGER; KO, 2007; MEYER; FISH, 2008; VALADÃO, 2010; FLECKNELL, 2016; FANTONI; CORTOPASSI; BERNARDI, 2017). De forma contrária, doses elevadas administradas pela via intravenosa levam a um efeito depressor marcante no sistema cardiovascular (VALADÃO, 2010). Em primatas não humanos não alterou a frequência cardíaca ou a pressão arterial média (MEYER; FISH, 2008). No miocárdio tem um efeito antiarritmico, diminui a extensão de infartos e promove melhora na recuperação funcional deste músculo (MEYER; FISH, 2008; VALADÃO, 2010). Pacientes com estresse preexistente ou cardiomiopatia hipertrófica tem maior risco de desestabilização cardiovascular após administração de cetamina (LICHTENBERGER; KO, 2007).

Pela inibição dos canais de cálcio leva a uma vasodilatação cerebral com significativo aumento do fluxo sanguíneo cerebral e pressão intracraniana (WHITE; WAY; TREVOR, 1982; MEYER; FISH, 2008; VALADÃO, 2010; BERRY, 2015; RAJAEI et al., 2017), devendo ser evitada em animais com patologias intracranianas prévias.

Apesar do aumento de pressão intracraniana, a estimulação hemodinâmica com consequente aumento de perfusão cerebral pode caracterizá-la como a droga de preferência após uma lesão cerebral (MEYER; FISH, 2008), uma vez que esse efeito adverso pode ser atenuado a partir de uma ventilação controlada (BERRY, 2015). Em ratos ventilados, a cetamina, na dose de 50mg/kg, não induziu a

alteração significativa no fluxo sanguíneo cerebral, bem como em humanos não aumentou a pressão intracraniana (MEYER; FISH, 2008).

Por sua atividade antagonista de receptores NMDA possui ação anticonvulsivante e neuroprotetora (WHITE; WAY; TREVOR, 1982; MEYER; FISH, 2008; VALADÃO, 2010). Efeitos neurotóxicos foram observados após administração de altas doses de cetamina em animais em desenvolvimento e em ratos adultos sem lesão cerebral (MEYER; FISH, 2008). As diferenças nas doses e espécies envolvidas nos estudos podem explicar a contradição encontrada em literatura referente aos seus efeitos convulsivantes ou anticonvulsivantes (VALADÃO, 2010).

A maior vantagem sobre outros depressores do SNC é que é um dos poucos agentes que não deprime a função respiratória em doses anestésicas (GREEN et al., 1981), exceto quando administrada em forma de infusão intravenosa rápida (WHITE; WAY; TREVOR, 1982). Um padrão de respiração apnêustica é comumente observado (FANTONI; CORTOPASSI; BERNARDI, 2017). Em coelhos, baixas doses promovem queda na frequência respiratória (MEYER; FISH, 2008).

Como outro efeito adverso, a cetamina pode levar a um aumento de pressão intraocular em decorrência da constrição de músculos extraoculares em várias espécies (FANTONI; CORTOPASSI; BERNARDI, 2017; RAJAEI et al., 2017). A associação com xilazina minimizou essa condição (RAJAEI et al., 2017) assim como promoveu uma redução do fluxo sanguíneo entre 25 a 65% (MEYER; FISH, 2008). Entretanto, quando administrada juntamente com acepromazina ou diazepam, em coelhos, não preveniu esse efeito (GHAFARI; MOGHADDASSI, 2010).

O uso prolongado pode resultar em irritação da bexiga, efeito registrado entre duas a três semanas após a administração, em ratos (FLECKNELL, 2016). A cetamina potencializa úlceras estomacais induzidas pelo estresse em ratos, provavelmente devido a vasoconstrição esplênica (MEYER; FISH, 2008).

A administração de cetamina quase sempre vem em associação com α_2 -adrenérgicos como a xilazina ou a medetomidina, ou com sedativos como o diazepam, com o objetivo de eliminar a rigidez muscular que ocorre com seu uso isolado, melhorar a analgesia e sedação, promover anestesia cirúrgica e prolongar a duração da anestesia (GREEN et al., 1981; MEYER; FISH, 2008; FLECKNELL, 2016). Seu uso isolado não é permitido uma vez que pode promover movimentos involuntários e agitação, bem como posturas bizarras e comportamento do tipo alucinatório (WHITE; WAY; TREVOR, 1982; VALADÃO, 2010).

A combinação mais segura para produzir um plano anestésico em roedores parece ser com α_2 -adrenérgicos (FLECKNELL; THOMAS, 2015) os quais inibem ou reduzem os efeitos adversos dos agentes dissociativos (VALADÃO, 2010). Em camundongos a combinação com acepromazina ou xilazina produz uma anestesia segura, de longa duração e um plano anestésico estável (FLECKNELL; THOMAS, 2015). Entretanto, um dos efeitos adversos dessa associação é a depressão cardiorrespiratória (FANTONI; CORTOPASSI; BERNARDI, 2017).

É importante ressaltar que o uso de outros agentes altera a farmacocinética da cetamina e, de forma geral, potencializa e prolonga sua ação ao mesmo tempo que diminui seus efeitos adversos (MEYER; FISH, 2008). Estudos concluíram que a xilazina e o diazepam são compatíveis com a cetamina e aumentam sua ação sedativa e anestésica devido as suas propriedades anticonvulsivantes e miorrelaxantes, porém não mostraram efeito no grau de analgesia (GREEN et al., 1981).

2.6 MELOXICAM

Os anti-inflamatórios não esteroidais pertencem a segunda classe de medicamentos mais administrada em roedores (FLECKNELL; THOMAS, 2015). Desenvolvidos para o tratamento de osteoartrite e artrite reumatóide (NOBLE; BALFOUR, 1996), também são muito utilizados em diversas espécies animais e no homem no tratamento de dores pós-operatória e musculoesqueléticas (ARAUJO et al., 2005).

Além de não serem substâncias controladas, o que facilita sua aquisição, a principal vantagem sobre outros agentes analgésicos é seu longo tempo de ação (LICHTENBERGER; KO, 2007), que permite diminuir o estresse de contenção e facilita a manutenção do protocolo analgésico pelo pesquisador. Ainda, oferece uma opção às terapias com analgésicos opióides, cujo tempo de meia-vida é bem mais reduzido (KENDALL et al., 2014). Entretanto, apesar de largamente aceito, alguns autores ainda questionam essa afirmação. Flecknell e Thomas (2015) afirmam que a duração dos AINEs é incerta e pode variar de oito a vinte e quatro horas.

Os AINEs são hidro e lipossolúveis, sendo que aqueles mais solúveis em gordura como o cetoprofeno, o naproxeno e o ibuprofeno, penetram mais facilmente

no SNC e estão associados com leves alterações no humor e na função cognitiva (MONTEIRO et al., 2008).

De forma geral promovem a inibição da enzima cicloxigenase, a qual desencadeia a transformação de ácido araquidônico em mediadores lipídicos denominados prostaglandinas e tromboxanos (ARAUJO et al., 2005). As prostaglandinas agem no centro de termorregulação do hipotálamo produzindo febre, bem como estão envolvidas na regulação de mediadores da inflamação e na sensibilização nervosa. Exibem, assim, suas características antipiréticas, antiinflamatórias e analgésicas (HUNTER; WOOD; DARGAN, 2011).

Em 1991, evidenciou-se a existência de duas isoformas da enzima cicloxigenase, designadas cicloxigenase-1 (COX-1) e cicloxigenase-2 (COX-2) (BATLOUNI, 2010; HUNTER; WOOD; DARGAN, 2011). A isoforma COX-1 é expressa de forma constitutiva na maioria dos tecidos, sendo essencial para a manutenção do estado fisiológico normal nesses locais, entre eles a mucosa gástrica, o endotélio vascular e o tecido renal (BUSCH et al., 1998; ARAUJO et al., 2005; BATLOUNI, 2010; HUNTER; WOOD; DARGAN, 2011; KENDALL et al., 2014; JIRKOF, 2017). A COX-1 promove funções pulmonares, cardiovasculares e reprodutivas, além de controlar o fluxo sanguíneo renal e a homeostasia (BATLOUNI, 2010). Na mucosa gástrica catalisa a biossíntese de prostaglandinas citoprotetoras (ARAUJO et al., 2005; AURIEL; REGEV; KORCZYN, 2014). O tromboxano A₂ (TXA₂), sintetizado primariamente nas plaquetas pela atividade da COX-1, causa agregação plaquetária, vasoconstrição e proliferação de células musculares lisas (BATLOUNI, 2010; MATHIESEN et al., 2014).

Por outro lado, a produção de COX-2 é induzida em processos inflamatórios a partir de vários estímulos como citocinas, endotoxinas e fatores de crescimento (BATLOUNI, 2010; HUNTER; WOOD; DARGAN, 2011; JIRKOF, 2017), apesar de ter sido demonstrada sua expressão constitutiva em alguns tecidos do sistema nervoso central e do rim (ARAUJO et al., 2005). A COX-2 origina prostaglandinas indutoras, as quais contribuem ao desenvolvimento de edema, rubor, febre e hiperalgesia, bem como estimula a síntese de prostaciclina pelas células endoteliais em resposta ao estresse de cisalhamento (BATLOUNI, 2010; TEIXEIRA et al., 2014).

A maioria dos AINEs atua de forma não-seletiva inibindo as duas isoformas da cicloxigenase. A inibição da COX-1 está associada com efeitos gástricos e renais

bem como com a inibição de agregação plaquetária (NOBLE; BALFOUR, 1996; LICHTENBERGER; KO, 2007; MONTEIRO et al., 2008; HUNTER; WOOD; DARGAN, 2011; KENDALL et al., 2014; BURUKOGLU et al., 2016; JIRKOF, 2017). Apesar da administração antes da cirurgia apresentar benefícios como a redução da inflamação no sítio cirúrgico e redução da dor pós-cirúrgica, os AINEs aumentam os riscos de sangramento durante a cirurgia devido sua função plaquetária, o que pode levar a complicações (JIRKOF, 2017). Dessa forma, não devem ser utilizados em animais hipovolêmicos ou com doença renal preexistente, sendo recomendada a avaliação prévia da função renal (LICHTENBERGER; KO, 2007).

Os efeitos gastrointestinais variam desde dispepsia a sangramentos de estômago e duodeno, além da ativação de doenças inflamatórias intestinais quiescentes e dano tecidual (como úlceras) no trato gastrointestinal baixo, geralmente, após um longo período de uso (MONTEIRO et al., 2008; HUNTER; WOOD; DARGAN, 2011). Essas drogas levam a um aumento da secreção ácida aumentando o risco de úlceras gástricas em decorrência da inibição de prostaglandinas: eicosanóides que inibem a secreção ácida produzida pelo estômago, aumentam o fluxo sanguíneo na região e promovem a secreção de mucocitoprotetor, protegendo dessa forma a mucosa estomacal em tratamentos de longo prazo (MONTEIRO et al., 2008; BATLOUNI, 2010; BURUKOGLU et al., 2016). Quanto a ação analgésica, os AINEs convencionais, como aspirina e paracetamol, têm efetividade semelhante aos inibidores específicos de COX-2 (ARAUJO et al., 2005).

O meloxicam, assim como o carprofeno, tem sua ação inibitória principalmente sobre a COX-2 (NOBLE; BALFOUR, 1996; BUSCH et al., 1998; JOHNSTON; NARBE, 2012; KENDALL et al., 2014; CHEN et al., 2016), preservando a proteção mediada por prostaglandinas, o que o torna melhor tolerado e permite seu uso a longo prazo, inclusive em dores crônicas, com mínimos efeitos gástricos (CHESNE; et al., 1998; JIRKOF, 2017). Entretanto, o meloxicam mantém um bloqueio parcial de COX-1, ação que é potencializada quando administrado em altas doses (MONTEIRO et al., 2008; BURUKOGLU et al., 2016).

Potente inibidor de tromboxano e prostaglandina, o meloxicam tem excelente ação antipirética e analgésica, grande potencial terapêutico, e seus efeitos anti-inflamatórios parecem ser similares ou melhores do que o de outros AINEs (NOBLE; BALFOUR, 1996; ARAUJO et al., 2005). O meloxicam apresentou ação mais

potente do que o piroxicam tanto na inibição de prostaglandinas nas áreas inflamadas como nos efeitos antiexsudativos no modelo de carragenina (NOBLE; BALFOUR, 1996).

Pertencente a classe dos ácidos enólicos, possui estrutura semelhante a outros AINEs, porém a introdução do grupo metílico facilita sua biotransformação, levando a uma eliminação mais rápida e menor tempo de meia-vida quando comparado a outros anti-inflamatórios como o piroxicam e o tenoxicam (BUSCH et al., 1998).

Altamente absorvido pelo estômago e mucosa intestinal, possui alta afinidade com proteínas plasmáticas, principalmente a albumina, passando por biotransformação hepática (BUSCH et al., 1998; JOHNSTON; NARBE, 2012; BURUKOGLU et al., 2016). Animais com hipoalbuminemia têm maiores concentrações da forma livre da droga, que corresponde a sua forma ativa (MONTEIRO et al., 2008).

A hidroxilação ocorre por meio de enzimas hepáticas denominadas CYPs, sendo a principal delas a CYP2C9 a qual, além da CYP3A4, gera como principal metabólito o 5-hidroximetil (M7) (CHESNE; et al., 1998). Foram observadas diferenças de biotransformação entre duas linhagens de ratos devido a diferença de velocidade de metabolismo e eliminação entre elas, assim como a velocidade de metabolização parece diminuir com a idade devido a diminuição nos níveis de CYPs (BUSCH et al., 1998).

Não foi observada diferença significativa de farmacocinética comparando-se os gêneros. Uma dose única de meloxicam para machos e fêmeas de camundongos, por via oral ou intravenosa, mostrou um tempo de meia-vida semelhante, embora para machos tenha sido mais curto do que o observado em machos de outras espécies. Em ratos, a concentração plasmática foi idêntica entre os gêneros durante a fase inicial de distribuição, vindo a apresentar uma clara diferença durante a fase de eliminação mais longa (eliminação bifásica). Aqui, as fêmeas demonstraram concentrações mais altas e, portanto, eliminação mais lenta, com meia-vida de 37 horas em contraste com as 13 horas observada em machos (BUSCH et al., 1998). Os mesmos resultados foram observados por Chen et al. (2016) a partir da administração subcutânea do medicamento em machos e fêmeas de ratos e camundongos.

Camundongos têm um *clearance* plasmático até 10 vezes mais rápido do que o de ratos e humanos (BUSCH et al., 1998). As administrações subcutâneas em camundongos foram rapidamente eliminadas demonstrando que o regime de administração S.I.D. (*semel in die*) não promove adequada analgesia como em ratos (CHEN et al., 2016), sendo necessário um menor intervalo de administração ou doses mais elevadas para essa espécie alcançar o efeito analgésico desejado no pós-operatório (WRIGHT-WILLIAMS et al., 2007; FLECKNELL, 2018a).

Sua excreção ocorre pela via renal (principalmente) e biliar, não existindo evidência de acumulação no organismo (NOBLE; BALFOUR, 1996; BUSCH et al., 1998; MONTEIRO et al., 2008; BURUKOGLU et al., 2016).

Ainda, tem preferência pelos tecidos inflamados, provavelmente devido ao baixo pH dessas regiões (BUSCH et al., 1998; JOHNSTON; NARBE, 2012).

Os AINEs seletivos para a COX-2 são denominados COXIBEs e parecem exercer importantes efeitos cardiovasculares adversos (HUNTER; WOOD; DARGAN, 2011), que incluem aumento do risco de infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral, insuficiência cardíaca, insuficiência renal e hipertensão arterial (BATLOUNI, 2010; JIRKOF, 2017). Há indícios de que a cardiotoxicidade seja dose-dependente e proporcional à seletividade para COX-2 (ARAUJO et al., 2005), bem como esteja relacionada ao uso crônico desses medicamentos (MONTEIRO et al., 2008; JIRKOF, 2017).

Como citado anteriormente, a COX-2 resulta na formação de prostaciclina. Esse é o principal prostanóide secretado pelas células endoteliais. Provoca relaxamento das células musculares lisas vasculares e é um potente vasodilatador. Além disso, age nos receptores IP das plaquetas, promovendo efeito antitrombótico e redução da agregação e adesão plaquetária, mantendo um equilíbrio entre os processos hemorrágicos e a trombose. Sua inibição reduz a produção de prostaciclina levando a um aumento de eventos tromboticos e cardiovasculares (MONTEIRO et al., 2008; BATLOUNI, 2010).

O rim é o segundo órgão que mais sofre os efeitos adversos dos AINEs. Os efeitos renais decorrentes da inibição de ciclooxigenase são a redução do fluxo sanguíneo renal e da taxa de filtração glomerular, retenção de sódio e hipercalemia. Os efeitos podem ser menores em AINEs seletivos para COX-2, mas como essa enzima tem um papel importante na excreção de sódio, potássio e água, bem como na liberação de renina, não se pode afirmar que promoverá menos efeitos renais

(PEHLIVAN et al., 2010). Também foi descrito que a COX-2 tem um papel chave na neuroinflamação, estando implicada na patogênese de doenças neurodegenerativas como a esclerose múltipla, a Doença de Parkinson e o Alzheimer (YANG; CHEN, 2008).

É importante ressaltar que a maioria dos protocolos envolve administração de altas doses de AINEs por longos períodos, potencializando o aparecimento dos efeitos adversos relacionados a essa classe de medicamentos. O curto período de tratamento necessário no pós-operatório não parece desencadear esses efeitos (FLECKNELL, 2018a).

A toxicidade aguda pode ocorrer, tendo sido reportada em pacientes humanos cujos sinais clínicos observados incluíam acidose metabólica, insuficiência renal, convulsões, ataxia e desorientação (HUNTER; WOOD; DARGAN, 2011; AURIEL; REGEV; KORCZYN, 2014). O mecanismo pelo qual isso ocorre está aparentemente relacionado com a inibição excessiva de cicloxigenases, também expressas, sob determinadas circunstâncias, pela maioria das células do SNC (YAMAGATA et al., 1993; YANG; CHEN, 2008; AURIEL; REGEV; KORCZYN, 2014). Não existem antídotos específicos para a toxicidade aguda desencadeada por AINEs (HUNTER; WOOD; DARGAN, 2011).

No que se refere a doses, encontramos grandes variações em literatura. A dose de meloxicam normalmente administrada em camundongos varia de 1 a 2mg/Kg a cada 12 horas, mas diversas publicações recentes sugerem que devem ser mais altas do que as originalmente propostas. O intervalo de 0,98 a 2,6mg/Kg é utilizado para testes nociceptivos químicos e térmicos, entretanto doses de 2 a 20mg/Kg são utilizadas para o tratamento de animais hepatectomizados, vasectomizados, que sofreram isquemia cerebral ou imunização com adjuvante de Freund (KENDALL et al., 2014). Chen et al. (2016) pesquisaram em sites de diversas universidades e encontraram uma variação na posologia para camundongos de 0,3 a 20mg/Kg, a cada 12 ou 24 horas, dependendo da Instituição e do procedimento cirúrgico. Estudos prévios demonstraram que após cirurgias abdominais são necessárias doses maiores do que 20mg/Kg (MILLER et al., 2012). A mesma variação pode ser observada em outras espécies de roedores, incluindo hamsters, como demonstrado na Tabela 2 anteriormente apresentada.

2.7 TRAMADOL

Opióides, rotineiramente utilizados no tratamento da dor em roedores de laboratório, são analgésicos potentes que exibem seus efeitos farmacológicos pela ligação e ativação de diversos receptores específicos, os quais encontram-se largamente distribuídos no sistema nervoso e no trato gastrointestinal (JIRKOF, 2017). Mais frequentemente, ligam-se aos receptores μ localizados no córtex cerebral e receptores K localizados na medula espinhal (KENDALL et al., 2014). Ainda, a partir do estímulo da dor inflamatória, com consequente ruptura de barreiras perineurais que facilitam o acesso dessas substâncias, os opióides agem nos neurônios sensoriais periféricos (GARCIA; CARDOSO; DOS-SANTOS, 2012).

Classificados como agonistas, agonistas parciais ou agonistas-antagonistas, alguns dos fármacos pertencentes a essa classe e que são mais comumente utilizados em pesquisa são o butorfanol, o fentanil, a morfina, o tramadol, a metadona e a buprenorfina. Eles diferem quanto ao seu mecanismo de ação e tempo de duração e, portanto, a escolha deve ser condicionada a avaliação do procedimento a que os animais serão submetidos. A morfina, agonista de receptores μ , é um excelente analgésico para ratos e camundongos e considerada a droga de escolha para controle de dor moderada a severa, entretanto, estudos demonstraram seu pico de ação após 30' da administração subcutânea promovendo analgesia por 2 a 3 horas em camundongos e ratos, sendo, portanto, de curta duração (GADES et al., 2000). O mesmo estudo demonstrou um pico de ação do butorfanol aos 10 minutos com rápido decaimento e duração entre 1 e 2 horas para ratos e camundongos.

Apesar de ser muito mais potente que o tramadol, o fentanil não é tão frequentemente utilizado devido seu curto tempo de ação, o que determina a necessidade de uma maior frequência de administração, gerando estresse aos animais. Concentrações plasmáticas efetivas persistem por menos de uma hora (KENDALL et al., 2014).

Com relação a buprenorfina, apesar de ser um agonista parcial de receptores μ (GADES et al., 2000; FLECKNELL, 2018a), o grau de analgesia é normalmente suficiente para controlar a dor pós-cirúrgica da maioria dos procedimentos (FLECKNELL, 2018a). A duração de ação é dose-dependente e pode variar entre 4 a 8 horas dependendo da espécie e do indivíduo (FLECKNELL,

2018b). Tem efeito analgésico por 3 a 5 horas em camundongos e por 6 a 8 horas em ratos (GADES et al., 2000) sendo o agente mais extensivamente utilizado para essas espécies (FLECKNELL, 2018b).

O tramadol é um analgésico de ação central que, diferente de outros fármacos da mesma classe, possui dois mecanismos de ação. Além da fraca ligação com receptores opióides do tipo μ , promove inibição da recaptção de serotonina e noradrenalina (DRIESSEN; REIMANN; GIERTZ, 1993; LICHTENBERGER; KO, 2007; OYAMA et al., 2012; TAKHTFOOLADI et al., 2014a, 2014b; TAYLOR et al., 2016; FLECKNELL, 2018b). O tramadol sofre rápido metabolismo hepático pela enzima CYP2D6 (HEAVNER; COOPER, 2008). Seu principal metabólito é o O-desmethyltramadol, um opiáceo mais potente que o próprio tramadol (FLECKNELL, 2018b), com até 10 vezes mais afinidade com os receptores opiáceos (DRIESSEN; REIMANN; GIERTZ, 1993). Seu tempo de ação ainda não está bem definido e a maioria das publicações que trazem a dosagem e via de administração não estabelecem o intervalo de administração (GAERTNER et al., 2008; FLECKNELL, 2018a, 2018b). Foram encontradas recomendações para administração a cada oito ou doze horas em ratos e cada doze horas em camundongos (MAYER; MANS, 2018).

Por ser um fármaco opioide de mais fácil acesso e menor custo, e por promover poucos dos efeitos colaterais normalmente associados aos opioides clássicos, como depressão respiratória e do íleo (TAKHTFOOLADI et al., 2014b; TAYLOR et al., 2016), o tramadol torna-se uma excelente escolha. Ainda, alguns estudos demonstraram sua ação neuroprotetora, cardioprotetora e antiinflamatória (TAKHTFOOLADI et al., 2014b).

Os efeitos decorrentes da utilização de opioides devem ser levados em consideração no protocolo de pesquisa de modo a não influenciar os resultados experimentais ou sua interpretação. Da mesma forma, os efeitos adversos devem ser previstos a fim de impactar minimamente no bem-estar dos animais de laboratório. Dada sua abundante distribuição e as características distintas de seus receptores, os opioides promovem diversos efeitos colaterais os quais incluem constipação, náusea e retenção urinária, além de vício, tolerância e hiperalgesia (JIRKOF, 2017).

O principal efeito colateral relacionado ao uso desse grupo de fármacos é a depressão respiratória, a qual está diretamente relacionada a ativação de receptores

opióides localizados nos centros respiratórios do tronco encefálico (SCHIER et al., 2014; JIRKOF, 2017). Os receptores opioides são abundantes nesses locais e, assim, vários efeitos podem ser observados: hipercapnia, hipóxia, diminuição da frequência e volume respiratórios, respiração irregular e supressão da função do músculo faríngeo (incluindo a língua) (SCHIER et al., 2014). Esses efeitos podem levar a complicações durante a anestesia e durante o período de recuperação anestésica (JIRKOF, 2017).

Alguns opioides podem afetar o sistema imunológico de diversas formas (BOLAND et al., 2014; JIRKOF, 2017). A modulação do sistema imune refere-se a um estímulo que pode alterar a geração, função e maturação de células imunes por diversos mecanismos, caracterizados tanto em humanos quanto em animais de laboratório. Essa modulação ocorre de forma diferente dependendo da droga utilizada. Enquanto o tramadol promove um leve aumento da função imune, o fentanil e a morfina parecem diminuí-la (JIRKOF, 2017). Considerando que opióides são essenciais no tratamento da dor em pacientes oncológicos, devemos levar em consideração que estudos pré-clínicos indicam que esses fármacos têm o potencial de influenciar os mecanismos de vigilância imunológica tumoral (BOLAND et al., 2014).

Ainda, a liberação endógena ou administração exógena desses compostos podem ter efeito cardioprotetor. Foi observado uma extensão reduzida de infartos após pré-condicionamento com fentanil em experimentos de reperfusão com isquemia em roedores. Alguns estudos apresentam resultados conflitantes sobre o fato de os opióides interferirem ou não no processo de cicatrização de feridas (JIRKOF, 2017).

Um efeito colateral incomum em ratos que receberam buprenorfina é o aparecimento do comportamento denominado pica, que refere-se a ingestão de cama de modo compulsivo (FLECKNELL, 2018a) e que pode influenciar estudos nutricionais.

É importante ressaltar que a maioria dos estudos envolvendo opióides são desenvolvidos em organismos que não foram submetidos a dor, o que pode alterar a interpretação dos resultados quando o foco é o estudo de analgesia (GARCIA; CARDOSO; DOS-SANTOS, 2012).

A Tabela 3 mostra as características esperadas dos fármacos quando utilizados isoladamente.

Tabela 3 - Características esperadas dos fármacos quando utilizados isoladamente

	A	X	C	T	M
Sedação	+	+++		+	
Analgesia		+	+	+	++
Relaxamento muscular			+		
Anestesia			+++		
Temperatura corporal	↓	↑			
Depressão cardiovascular		↑			
Depressão respiratória		↑	↑	↑	

A – acepromazina; X – xilazina; C – cetamina; T – tramadol; M – meloxicam;

+++ (acentuada); + (leve); ↑ (aumenta); ↓ (diminui);

Fonte: Seabra (2019).

2.8 HEMOGRAMA E BIOQUÍMICA

Uma análise clínica de segurança e toxicidade, em animais de laboratório, inclui avaliações bioquímicas que irão verificar o funcionamento de diferentes órgãos, como fígado e rins (MELILLO, 2007) através do monitoramento de diversos parâmetros como glicose, ureia, creatinina e testes de função hepática – alanina amino transferase (ALT) e aspartato amino transferase (AST) –, sendo o soro a amostra de preferência para a maioria das análises, a fim de evitar a interferência pela ação de anticoagulantes (WASHINGTON; VAN HOOSIER, 2012). Análises hematológicas também são de suma importância nesse sentido.

A revisão de literatura nos mostra que tanto os parâmetros hematológicos quanto bioquímicos sofrem influência de muitos fatores, sendo importante conhecer a natureza e magnitude dessas variações para uma interpretação correta dos valores obtidos. Neste sentido podemos citar o método de contenção, a via de obtenção e preparo da amostra, tipo de análise e tempo de processamento, dieta e jejum, além de fatores do próprio animal (espécie, linhagem, idade, sexo, ciclo circadiano e reprodutivo, microbiota), do ambiente (fotoperíodo) e eventuais artefatos como a hemólise (CINCOTTA; MEIER, 1984; WOLFORD et al., 1986; SCHNELL et al., 2002; TOFT et al., 2006; MELILLO, 2007; PILNY, 2008; JOSLIN, 2009; FERNÁNDEZ et al., 2010; WASHINGTON; VAN HOOSIER, 2012; FALLER et al., 2015; HOGGATT et al., 2016). A anestesia é, também, um importante fator a ser considerado uma vez que ela própria pode produzir alterações incluindo diminuição

do hematócrito, dos níveis de hemoglobina e da contagem de glóbulos vermelhos (GAD; HESS, 2007; WASHINGTON; VAN HOOSIER, 2012; BOUGHERARA; BOUAZIZ, 2014; NAKAMURA et al., 2017).

A maioria dos pequenos mamíferos são presas na natureza e por isso são animais facilmente estressados quando manuseados, anestesiados ou transportados (JOSLIN, 2009). Esse estresse pode promover a alteração de alguns valores, em maior ou menor grau. Em coelhos, o estresse prolongado decorrente de transporte, dor crônica, ruídos e cheiros desconhecidos pode afetar diversos parâmetros hematológicos e induzir, por exemplo, a leucocitose. Da mesma forma, a contenção física pode levar ao aumento de diversas enzimas musculares como lactato desidrogenase (LDH), aspartato aminotransferase (AST) e creatina quinase (CK), podendo, ainda, elevar os níveis de glicose no sangue (MELILLO, 2007; FERNÁNDEZ et al., 2010; WASHINGTON; VAN HOOSIER, 2012). Ratos estressados podem apresentar imediata leucocitose e diminuição de linfócitos circulantes acima de 12% (PILNY, 2008). A hiperglicemia e a leucocitose observadas em situações de estresse podem ser atribuídas ao aumento na liberação de catecolaminas de forma secundária à excitação ou ao medo (DECKARDT et al., 2007). A contagem de células brancas pode ser utilizada para diferenciar o estresse agudo do estresse crônico decorrente de desnutrição, por exemplo (MELILLO, 2007).

A idade se mostrou uma variável importante na obtenção de parâmetros bioquímicos e hematológicos. O volume total de sangue pode ser afetado pela idade e massa magra corporal, diminuindo com o crescimento (JOSLIN, 2009). Como em outros mamíferos, hamsters jovens têm níveis mais elevados de fosfatase alcalina (ALP) do que animais mais velhos (CLIFFORD; SIMMONS, 2018). Valores dessa enzima foram maiores em ratos, cães e primatas não humanos jovens, enquanto a hemoglobina diminui poucos dias após o nascimento em coelhos e cães, aumentando entre 2 a 3 meses de vida (WOLFORD et al., 1986). Em ratos e camundongos a quantidade de neutrófilos aumenta e a quantidade de linfócitos diminui com a idade (PILNY, 2008; EVANS, 2009). O hematócrito se mostra aumentado em hamsters a partir da oitava semana (HOUSE; PANSKY; JACOBS, 1961). Em um estudo com quatro linhagens de camundongos a AST mostrou aumento associado com a idade (QUIMBY; LUONG, 2007). Animais mais velhos podem apresentar valores elevados de ureia em decorrência de doença renal não

diagnosticada e, por isso, a idade deve ser mencionada no estudo (GAD; HESS, 2007; WASHINGTON; VAN HOOSIER, 2012). Hamsters entre quatro e oito semanas de idade tiveram um aumento em torno de 50% na quantidade de células vermelhas, 10% no hematócrito e 10% no níveis de hemoglobina, além de uma redução de 20% no volume corpuscular médio e 15% na hemoglobina corpuscular média (RODRIGUES et al., 2017).

Os parâmetros bioquímicos e hematológicos também podem ser diferentes quando comparamos linhagens de uma mesma espécie e de diferentes origens (EVANS, 2009). Essas diferenças foram observadas em macacos, camundongos e coelhos (WOLFORD et al., 1986). Na comparação entre duas linhagens de hamsters obtidas de diferentes procedências foi observado que as fêmeas de uma colônia apresentavam aumento nos níveis de cálcio e diminuição dos níveis de glicose e triglicérides (CLIFFORD; SIMMONS, 2018).

Diferenças entre sexos ocorrem, mas são sutis e alguns autores preferem estabelecer valores de referência para ambos os sexos (GAD; HESS, 2007). Pilny (2008) demonstrou que a contagem de células vermelhas é normalmente menor em fêmeas. Um estudo que utilizou machos e fêmeas de hamsters siberiano entre 17 e 27 meses de idade identificou aumento nos níveis de ureia em machos (MCKEON et al., 2011). Fêmeas de camundongos C57BL/6 mostraram valores mais elevados de glóbulos vermelhos, hemoglobina, hematócrito, ALP, proteína total e albumina, enquanto machos tiveram contagem mais elevada de plaquetas e células brancas (SCHNELL et al., 2002). Os valores de eritrócitos, leucócitos e plaquetas foram similares para machos e fêmeas de hamsters e cobaias em diferentes intervalos de coleta (RODRIGUES et al., 2017). Também podem ser observadas diferenças decorrentes da relação entre dois fatores: sexo e idade. Um estudo demonstrou que o colesterol foi inicialmente mais alto em fêmeas jovens de cães beagles e a diferença de valores entre os sexos foi significativamente menor a medida que os animais envelheciam (WOLFORD et al., 1986).

Apesar de existirem poucas informações sobre a prevalência de doenças infecciosas em hamsters de laboratório, bem como de seus efeitos nos parâmetros bioquímicos, a presença do *Helicobacter cholecystus* foi associada a lesões no fígado e ductos biliares, podendo alterar níveis enzimáticos e de ácidos biliares (CLIFFORD; SIMMONS, 2018).

O horário de coleta deve ser levado em consideração pois os valores podem variar ao longo do dia (WOLFORD et al., 1986). O ritmo circadiano da lipogênese e o ritmo circadiano da concentração de insulina no plasma foi caracterizado em diversos estudos (CINCOTTA; MEIER, 1984). Existem evidências de uma variação na contagem de leucócitos ao longo do dia para a maioria das espécies de laboratório (EVANS, 2009). Em coelhos, o total de leucócitos é menor no final da tarde e à noite, enquanto a ureia e os níveis de colesterol tendem a aumentar (MELILLO, 2007). O contrário se observa em hamsters, nos quais o pico de leucócitos se manifesta no período noturno, quando os animais estão mais ativos (EVANS, 2009; SMITH; ZIMMERMAN; MOORE, 2010).

A pseudo-hibernação, característica em hamsters, promove aumento no volume sanguíneo e alteração de parâmetros hematológicos incluindo aumento da meia vida e da contagem de eritrócitos, aumento na concentração de hemoglobina e diminuição plaquetária (HEATLEY; HARRIS, 2009; WASHINGTON; VAN HOOSIER, 2012). Com relação ao fotoperíodo, à medida que o período de fase clara foi estendido, a concentração de leucócitos periféricos se elevou (PILNY, 2008). Em hamsters, a secreção de glicocorticóides sofre uma considerável variação no decorrer do dia, com os animais sendo mantidos em um ciclo de 14 horas de luz por 10 horas de escuridão. Em hamsters tanto o cortisol quanto a corticosterona atingem seu pico no início da fase escura e diminuindo no início do período claro (CLIFFORD; SIMMONS, 2018).

A via de coleta é outra variável importante a ser considerada. Amostras de sangue colhidas através do plexo orbital podem estar contaminadas por fluidos teciduais levando a uma maior variação do que quando o sangue é obtido de veias centrais (EVANS, 2009). Camundongos conscientes submetidos a coleta de sangue através do plexo orbital mostraram maiores concentrações de glicose (QUIMBY; LUONG, 2007; FERNÁNDEZ et al., 2010). Quando da punção retrorbital observou-se aumento na concentração de corticosterona e nos níveis de prolactina (MAHL et al., 2000). Houve um aumento de CK no sangue obtido pela veia submandibular quando comparado a amostras obtidas pela veia sublingual provavelmente, em decorrência de injúria muscular (HEIMANN et al., 2010). Em ratos, a cardiocentese levou a uma diminuição na quantidade de leucócitos e eritrócitos, assim como na concentração de hemoglobina e hematócrito quando comparada com a coleta pela veia da cauda (PILNY, 2008). Eritrócitos, hemoglobina e hematócrito são mais

elevados em amostras obtidas pela via retrorbital do que pela via intracardíaca, assim como também são observados valores menores de glóbulos brancos para amostras colhidas por essa última via (SCHNELL et al., 2002). Esses resultados corroboram com diversos outros estudos que mostraram que a contagem total de células brancas e neutrófilos é aumentada quando as amostras são derivadas de locais mais periféricos (ABATAN; WELCH; NEMZEK, 2008; HOGGATT et al., 2016).

Os efeitos da anestesia em parâmetros bioquímicos foram estudados em diferentes espécies animais e se mostraram bastante variáveis. Anestésicos podem afetar diversos parâmetros fisiológicos como glicose, uréia, creatinina, ALP, AST e ALT (BOUGHERARA; BOUAZIZ, 2014). Inicialmente ocorre redução na concentração de insulina e aumento de glucagon mas, com o tempo, os níveis de insulina aumentam produzindo um aumento de glicogenólise e lipólise, resultando em hiperglicemia que pode durar de 4 a 6 horas (FLECKNELL, 2016). Tiobarbituratos produzem hiperglicemia, sendo que em pelo menos um estudo os níveis de glicose foram maiores que 300mg/dL em machos adultos de hamsters sírio, persistindo por até 5 horas (GAD; HESS, 2007; MEYER; FISH, 2008; WASHINGTON; VAN HOOSIER, 2012; CLIFFORD; SIMMONS, 2018). O uso de cetamina em fêmeas de ratos parece ter determinado o aumento de uréia 120 minutos após a administração, voltando ao normal em 24 horas (BOUGHERARA; BOUAZIZ, 2014). A associação de medetomidina (0,15mg/Kg), midazolam (2mg/Kg) e butorfanol (2,5 mg/Kg) alterou significativamente a glicose e insulina plasmática de hamsters, assim como, porém em menor intensidade, alterou os níveis de alguns minerais como fósforo inorgânico, cálcio e sódio (NAKAMURA et al., 2017). Ferrets anestesiados com isoflurano apresentaram rápida diminuição de hematócrito, hemoglobina e quantidade de células vermelhas, sendo que os valores não retornaram aos níveis observados antes da anestesia até 45 minutos da administração (EVANS, 2009; JOSLIN, 2009). Camundongos anestesiados com isoflurano 2,5% também demonstraram diminuição nesses parâmetros e na quantidade de proteína total, bem como aumento nos níveis de glicose (DECKARDT et al., 2007; FERNÁNDEZ et al., 2010; HEIMANN et al., 2010). Animais anestesiados com dióxido de carbono apresentam maior quantidade de leucócitos (EVANS, 2009). A cetamina, por sua vez, promove um leve aumento de glicose sanguínea (WHITE; WAY; TREVOR, 1982; MEYER; FISH, 2008). É possível que os efeitos dos anestésicos nos parâmetros bioquímicos apareçam entre 30 a 60

minutos após a administração (BOUGHERARA; BOUAZIZ, 2014). Com relação aos parâmetros hematológicos, a cetamina parece inibir a agregação plaquetária e diminuir o hematócrito, a concentração de proteína plasmática e leucócitos (principalmente linfócitos) quando comparada com valores observados em animais manualmente contidos (MEYER; FISH, 2008; REAGAN; POITOUT-BELISSENT; ROVIRA, 2010).

Erros na interpretação de exames hematológicos podem ser decorrentes de amostragem deficiente, quantidades inapropriadas de anticoagulantes para o volume da amostra, presença de coágulos sanguíneos ou em decorrência de hemólise. Essa última pode levar a queda na contagem total de células vermelhas bem como, promover a liberação de constituintes intracelulares como potássio, fósforo inorgânico, proteína total e LDH, determinando altas concentrações destes no plasma (GAD; HESS, 2007; MELILLO, 2007). Considerando que a maioria das enzimas está presente em alta concentração nos eritrócitos o dano celular também pode levar a uma elevação de CK, ALT e AST (WASHINGTON; VAN HOOSIER, 2012; CLIFFORD; SIMMONS, 2018).

Como pudemos observar, os principais parâmetros bioquímicos afetados por essa ampla gama de variáveis são os níveis de glicose no sangue, a quantidade de enzimas AST e ALT, bem como uréia e creatinina.

A concentração de glicose depende das taxas de entrada (absorção intestinal, glicogenólise e gliconeogênese hepática) e retirada desta do sangue (captação de glicose tecidual). O equilíbrio entre a produção e a utilização é influenciado por uma série de hormônios como corticosteróides, hormônio de crescimento, catecolaminas (chamados antagonistas da insulina, pois interferem com a ação desta nas células) e insulina (principal responsável pela captação de glicose do sangue e utilização pelos tecidos, principalmente do músculo, fígado e gordura) (GAD; HESS, 2007; QUIMBY; LUONG, 2007). A glicose também é afetada pela via de coleta e pelo protocolo anestésico utilizado tendo, seu aumento, sido descrito em hamsters em pseudo-hibernação (WASHINGTON; VAN HOOSIER, 2012). Altos níveis de glicose também foram registrados após coleta pela veia da cauda de camundongos anestesiados com pentobarbital ou metoxiflurano quando comparados com animais sem efeito de fármacos anestésicos (QUIMBY; LUONG, 2007). As causas mais comuns de hiperglicemia são a falta de jejum prévio e a liberação de catecolaminas devido a excitação ou medo (GAD; HESS, 2007).

Em maiores concentrações no fígado, a ALT também é encontrada em diversos tecidos como intestino, rim, miocárdio, músculo esquelético e cérebro, sendo uma enzima muito utilizada para a identificação de dano nas células hepáticas (GAD; HESS, 2007; QUIMBY; LUONG, 2007; WASHINGTON; VAN HOOSIER, 2012). Nas células sua concentração é 10.000 vezes maior que no soro, portanto, em casos de alteração de permeabilidade da membrana celular pode estar aumentada sem necessariamente implicar em morte celular ou necrose, da mesma forma, seu aumento pode não estar relacionado com a reversibilidade da lesão (GAD; HESS, 2007). Mostra-se aumentada em certas infecções virais em camundongos (QUIMBY; LUONG, 2007), em decorrência da dieta, estresse de contenção e drogas (EVANS, 2009), ou ainda, em casos de falha cardíaca congestiva, miopatia ou obstrução de dutos biliares (WASHINGTON; VAN HOOSIER, 2012). Em episódio de hepatotoxicidade aguda a ALT pode permanecer elevada por até 01 hora (GAD; HESS, 2007).

A AST também é utilizada na identificação de dano hepático, porém seu aumento não é tão expressivo quanto o aumento de ALT nessas condições (GAD; HESS, 2007). Não é uma enzima exclusiva do fígado, sendo encontrada em altas concentrações também no músculo esquelético (WASHINGTON; VAN HOOSIER, 2012), além do músculo cardíaco, eritrócitos, vasos sanguíneos, cérebro, intestino, rins, pulmões e testículos (QUIMBY; LUONG, 2007). A AST se encontra em maior concentração nas amostras coletadas pela via retrorbital, seguida da via intracardíaca e veia cava (SCHNELL et al., 2002). Corticosteróides e anticonvulsivantes parecem induzir a produção de AST e ALT (GAD; HESS, 2007).

A creatinina é um composto nitrogenado não proteico produzido pela quebra da creatina no músculo. Encontrada no plasma e na urina, é excretada por filtração glomerular, sendo um importante parâmetro para avaliação da função renal. Nesse ponto é um indicador mais confiável do que a ureia uma vez que é menos influenciada por outros fatores como a dieta e a hidratação (MELILLO, 2007; WASHINGTON; VAN HOOSIER, 2012). Se encontra aumentada em casos de infecções (WASHINGTON; VAN HOOSIER, 2012) e por isso o conhecimento do estado clínico do animal é de suma importância na interpretação dos resultados. Importante ressaltar que aumento de ureia, denominado azotemia, também pode ser artificialmente induzido por atividades físicas intensas ou fornecimento de dietas com alta concentração proteica, o que também deve ser levado em consideração quando

da elaboração do protocolo experimental. A relação entre os valores de ureia e creatinina pode ser indicativa de lesões pré-renais quando estiver maior que 20:1 ou de doença renal quando estiver abaixo de 10:1 (WASHINGTON; VAN HOOSIER, 2012).

Apesar de amplamente conhecidos, na maioria das vezes esses interferentes não são descritos de forma detalhada quando são apresentados valores de referência, deixando, os autores, de mencionar, por vezes, a idade, sexo, horário e via de coleta, entre outros fatores. Importante ressaltar que os intervalos de referência são normalmente calculados para incluir 95% da população e que valores fora dessa faixa podem não ser indicativos de anormalidades e apenas representar os 5% da população que fogem desse padrão. Para a determinação de intervalos de referência é importante que a amostragem seja suficientemente expressiva contando com um mínimo de 40 indivíduos mas, idealmente, ser maior do que 100 animais (EVANS, 2009). Wolford (1986) utilizou mais de cem machos e cem fêmeas de hamsters entre 12 a 18 meses para estabelecer valores de referência para bioquímica e hematologia, tendo especificado o fotoperíodo a que os animais foram submetidos (14 horas de luz) e a via de coleta de sangue (plexo venoso ocular) com o animal consciente, ou seja, sem o uso de fármacos. Outros autores apresentaram, por vezes, referência ao gênero (GAD; HESS, 2007; SMITH; ZIMMERMAN; MOORE, 2010) ou nenhum detalhe foi fornecido (MAYER; MANS, 2018). As Tabelas 4 e 5 mostram os valores de referência para parâmetros hematológicos e bioquímicos em hamsters, respectivamente.

Tabela 4 - Valores de referência de parâmetros hematológicos em hamsters

		WOLFORD et al., 1986		GAD; HESS, 2007		SMITH; ZIMMERMAN; MOORE, 2010		IDEXX ProCyteDx
		M	F	M	F	M	F	M/F
RBC	M/ μ L	5,98-7,97	6,38-7,48	4,7-10,3	3,96-9,96	4,7-10,3	3,96-9,96	4 a 10
HCT	%	32,6-43,8	35,5-44	47,9-57,1	39,2-58,8	47,9-57,1	39,2-58,8	39 a 59
HGB	g/dL	12,3-16,5	13,6-16	14,4-19,2	13,1-18,9	14,4-19,2	13,1-18,9	13 a 19
WCB	K/ μ L	5,5-9,2	6,7-11,3	5,02-10,2	6,48-10,6	5,02-10,2	6,48-10,6	5 a 12
PLQ	K/ μ L	697-968	723-1101	367-573	300-490	-	-	300 a 600

RBC: eritrócitos / HCT: hematócrito / HGB: hemoglobina / WCB: leucócitos / PLQ: plaquetas

Fonte: Seabra (2019).

Tabela 5 - Valores de referência de parâmetros bioquímicos em hamsters

	WOLFORD et al., 1986			GAD; HESS, 2007		MAYER; MANS, 2018	
	M	F		M/F		M/F	
GLU	53-91	70-96	mg/dL	32,6-118	mg/dL	37-198	mg/dL
CREA	0,3-0,5	0,3-0,6	mg/dL	0,35-1,65	mg/dL	0,4-1	mg/dL
BUN	16-24	16-25	mg/dL	12,5-26	mg/dL	12 a 26	mg/dL
ALT	24-48	19-43	UI/L	11,6-35,9	UI/L	22-128	UI/L
AST	22-51	22-42	UI/L	37,6-168	UI/L	28-122	UI/L
ALP	41-77	48-97	UI/L	3,2-30,5	UI/L	-	UI/L

GLU: glicose; CREA: creatinina; BUN: ureia; ALT: aspartato alanotransferase; AST: aspartato aminotransferase

Fonte: Seabra (2019).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Analisar a segurança e a duração de diferentes protocolos de anestesia multimodal, associando-se fármacos opióides e AINEs, os quais serão administrados pela via intraperitoneal (IP) em hamsters sírios.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Avaliar a eficiência e segurança do protocolo anestésico clássico de cetamina e xilazina em associação com acepromazina e com um fármaco opioide;
2. Avaliar a eficiência e segurança do protocolo anestésico clássico de cetamina e xilazina em associação com acepromazina e com um fármaco anti-inflamatório não esteroide;
3. Analisar a variação entre machos e fêmeas submetidos ao mesmo protocolo anestésico;
4. Analisar a variação entre animais do mesmo sexo, submetidos a protocolos distintos;
5. Verificar a influência do suporte de oxigênio nos diferentes grupos experimentais;
6. Analisar alterações bioquímicas e hematológicas decorrentes do uso do protocolo anestésico acepromazina-xilazina-cetamina-meloxicam (AXCM).

4 MATERIAL E MÉTODOS

Todos os procedimentos foram realizados em conformidade com as diretrizes da Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA nº 239526087). As condições de alojamento seguiram legislação nacional publicada pelo órgão regulamentador da atividade (Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA), em especial as Resoluções Normativas nº 15/2013 e nº 33/2016, bem como diretrizes internacionais, em especial a 8ª edição do *Guide for the care and use of laboratory animals* (2011).

4.1 ANIMAIS

Foram utilizados 72 hamsters sírios (*Mesocricetus auratus*), com 08 semanas de idade, obtidos do biotério do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ/USP), sendo de padrão sanitário convencional. Os animais foram alojados em gaiolas abertas de polipropileno com dimensões de 41x34x16cm, separados por sexo, em número máximo de 05 animais, com cama de flocos de maravalha de *pinus* autoclavada, em sala com controle central de ar condicionado e exaustão, temperatura 22°C \pm 2° e fotoperíodo automático de 12h/12h, tendo recebido ração comercial peletizada irradiada (Nuvilab-CR1®, Quimtia, PR, Brasil) e água filtrada e autoclavada, *ad libitum*. Após um período de aclimação de uma semana os animais foram divididos em grupos e submetidos a um dos protocolos anestésicos.

4.2 PROCEDIMENTO ANESTÉSICO

Com base em estudo prévio realizado em nosso laboratório (dados não publicados) foram estabelecidos dois protocolos anestésicos: AXCM (acepromazina (2mg/kg) + xilazina (10mg/kg) + cetamina (100mg/kg) + meloxicam (10mg/kg)) e AXCT (acepromazina (2mg/kg) + xilazina (2,5mg/kg) + cetamina (100mg/kg) + tramadol (10mg/kg)). Adicionalmente, os mesmos protocolos anestésicos foram testados com ou sem suporte de oxigênio (O₂), perfazendo quatro grupos

experimentais de seis machos e seis fêmeas conforme apresentado a seguir. Os grupos foram comparados conforme apresentado no quadro 1.

1. AXCM (acepromazina (2mg/kg) + xilazina (10mg/kg) + cetamina (100mg/kg) + meloxicam (10mg/kg)) sem suporte de O₂;
2. AXCM (acepromazina (2mg/kg) + xilazina (10mg/kg) + cetamina (100mg/kg) + meloxicam (10mg/kg)) com suporte de O₂;
3. AXCT (acepromazina (2mg/kg) + xilazina (2,5mg/kg) + cetamina (100mg/kg) + tramadol (10mg/kg)) sem suporte de O₂;
4. AXCT (acepromazina (2mg/kg) + xilazina (2,5mg/kg) + cetamina (100mg/kg) + tramadol (10mg/kg)) com suporte de O₂.

Para evitar interferência do ritmo circadiano os experimentos foram conduzidos entre 11:00 e 17:00 horas. Os animais foram pesados individualmente no momento imediatamente anterior a anestesia, para o cálculo da dose (mg/Kg) de cada fármaco. Após o cálculo, os fármacos foram misturados em tubos plásticos cônicos (Eppendorf®, SP, Brasil) de 2ml e, então, administrados com uma injeção única, por via intraperitoneal. A administração IP foi feita com uma agulha 26G, em ângulo de 45°, no quadrante inferior direito do abdômen, a fim de evitar a penetração das vísceras no momento da inoculação. Após a administração iniciou-se o período de monitoramento colocando-os, isoladamente, em uma gaiola com cama limpa, na qual permaneceram até a perda do reflexo de endireitamento. Além deste, foram monitorados o movimento de vibrissas, a perda de coordenação motora (ataxia), perda e retorno dos reflexos palpebral e interdigital (medidos nos membros anteriores e posteriores), reflexo auricular, retorno dos movimentos de cabeça e da habilidade de caminhar, bem como os seguintes períodos de anestesia:

- a) Período de indução: período compreendido entre a administração do protocolo anestésico até o momento de perda de todos os reflexos;
- b) Período de anestesia cirúrgica: intervalo em que o animal permaneceu em plano anestésico, com ausência de todos os reflexos;
- c) Período de recuperação: intervalo compreendido entre o retorno do primeiro reflexo e a recuperação total do animal, incluindo o retorno da habilidade de caminhar.

Após a perda de todos os reflexos os animais foram colocados em decúbito dorsal sobre uma manta térmica, mantida a temperatura entre 35°C e 37°C para prevenir a hipotermia, ao mesmo tempo em que as córneas foram protegidas por um gel lubrificante oftálmico estéril (Vidisic® Gel-Bauch +Lomb, 2 mg/g, SP, Brasil), tendo início o monitoramento dos parâmetros fisiológicos. A frequência respiratória foi obtida por contagem direta dos movimentos torácicos e abdominais. A frequência cardíaca e a saturação de oxigênio no sangue (SO₂) foram obtidas através de monitor multiparamétrico *touchscreen* DeltaLife® DL1000. O oxímetro de pulso foi posicionado no membro posterior esquerdo dos animais. A temperatura retal foi obtida através de um termômetro digital e medida em graus centígrados (°C). As medições, foram realizadas imediatamente após a entrada no período de anestesia cirúrgica, com os animais sem suporte de oxigênio, e a partir daí em intervalos de 10 minutos até o retorno do primeiro reflexo. O suporte de oxigênio foi fornecido após a primeira medição e registro, por meio de uma máscara acoplada a um cilindro de oxigênio 100%, sendo mantido até o retorno dos movimentos da cabeça.

Quadro 1 – Esquema de comparação entre os grupos experimentais

ANÁLISE 1	♂ sem O ₂ x ♀ sem O ₂ ♂ com O ₂ x ♀ com O ₂
ANÁLISE 2	♂ sem O ₂ x ♂ com O ₂ ♀ sem O ₂ x ♀ com O ₂

Fonte: Seabra (2019).

Os parâmetros fisiológicos (FC, FR, temperatura, SO₂) e os tempos de indução, anestesia cirúrgica e recuperação foram analisados em cada intervalo de tempo comparando machos e fêmeas, com ou sem suporte de oxigênio, para cada protocolo (análise 1). O monitoramento foi realizado até que o primeiro animal do grupo tivesse saído do plano de anestesia cirúrgica. Também foram comparados os gêneros, com e sem suporte de oxigênio, para cada um dos protocolos (análise 2).

No período de indução foram somados em um mesmo grupo os 12 machos e em outro grupo as 12 fêmeas, uma vez que não houve diferença de metodologia nesta fase (o aporte de oxigênio só ocorreu após os animais terem entrado em plano cirúrgico).

Os animais foram eutanasiados com anestésico inalatório sevoflurano.

4.3 PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS

Uma vez que o protocolo AXCM envolveu a administração de uma alta dose de um AINE, realizamos análises a fim de verificar possíveis alterações nos parâmetros bioquímicos e hematológicos. Para tanto, seis machos e seis fêmeas foram anestesiados com o protocolo anestésico AXCM. Decorridos 30 minutos após a entrada no período de anestesia cirúrgica os animais foram eutanasiados através de exsanguinação por punção cardíaca. O sangue (0,5mL) foi depositado em um frasco previamente identificado, sem EDTA (ácido etileno diaminotetracético), para análise bioquímica. Em outro frasco previamente identificado, com EDTA, foi depositado 0,5 mL de sangue para realização de hemograma. As amostras foram submetidas a inversão suave por 30 segundos, sendo então acondicionadas em isopor com gelo a uma temperatura entre 5 °C e 10°C e analisadas em até 04 horas após a coleta. O grupo controle (seis machos e seis fêmeas) foi submetido a anestesia com anestésico inalatório sevoflurano e decorridos 30 minutos após a entrada no período de anestesia cirúrgica os animais foram eutanasiados através de exsanguinação por punção cardíaca.

4.3.1 Hemograma

As análises das séries vermelha e branca foram realizadas com auxílio do equipamento IDEXX ProcyteDx®.

4.3.2 Bioquímica

O sangue foi centrifugado a uma rotação de 3.000 rpm (rotações por minuto) durante 05 minutos e o plasma foi transferido para um tubo plástico cônico (Eppendorf®, SP, Brasil) de 1 mL. As análises bioquímicas foram realizadas com auxílio do equipamento IDEXX Procyte Catalyst One®, tendo sido utilizado o painel NSAID 6. Foram analisados os seguintes parâmetros: creatinina (CREA), ureia (BUN), alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e fosfatase alcalina (ALP). Ainda, uma gota de sangue foi utilizada para medição da glicose (GLU) em glicosímetro.

5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os tempos de anestesia foram analisados com o teste "t" de *student* não pareado, monocaudal, através do software estatístico *GraphPad Prism* 6. Foi estabelecido um nível de significância $p < 0,05$. Os *outliers* foram identificados pelo teste de ROUT, $Q=5\%$. Os resultados foram expressos em média e erro padrão (SEM).

A análise estatística dos parâmetros fisiológicos foi realizada pelo método ANOVA de duas vias, através do software estatístico *GraphPad Prism* 6. Foi estabelecido um nível de significância $p < 0,05$. Os resultados foram expressos em média e erro padrão (SEM). Os períodos de avaliação foram estabelecidos de acordo com a duração dos protocolos. Para o protocolo AXCM com e sem suporte de oxigênio e para o protocolo AXCT com suporte de oxigênio a avaliação foi realizada até os 40 minutos. Para o protocolo AXCT sem oxigênio a avaliação ocorreu até os 20 minutos, último período em que todos os machos encontravam-se em plano de anestesia cirúrgica.

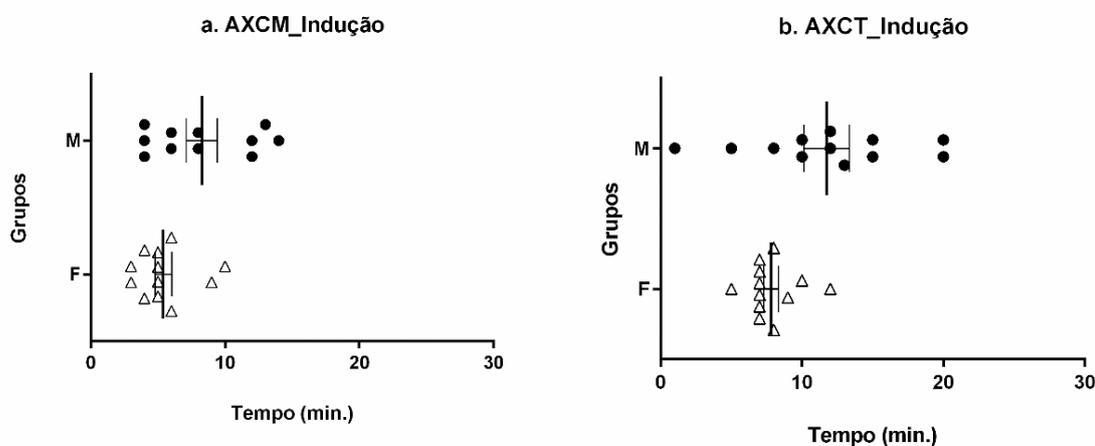
Os parâmetros hematológicos e bioquímicos foram analisados pelo método ANOVA de duas vias, através do software estatístico *GraphPad Prism* 6. Foi estabelecido um nível de significância $p < 0,05$. Os resultados foram expressos em média e erro padrão (SEM).

6 RESULTADOS

6.1 TEMPOS DE ANESTESIA

Quando comparamos machos e fêmeas observamos diferença estatística nos períodos de indução (Gráfico 1) onde os machos demoraram em média 4 minutos a mais para entrarem em plano de anestesia cirúrgica. Ainda, é possível notar maior variação individual entre os machos de um mesmo grupo.

Gráfico 1: Comparação dos tempos de indução, entre machos e fêmeas de hamsters, sem suporte de oxigênio



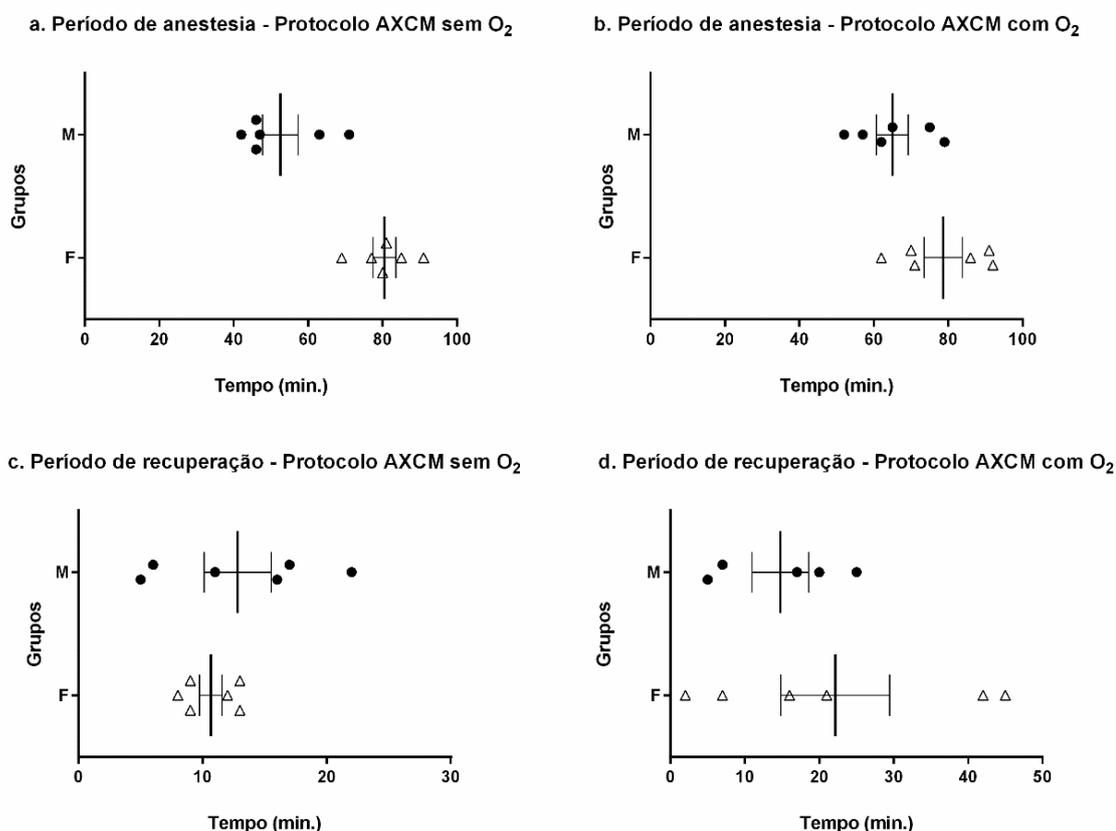
Fonte: Seabra (2019).

Legenda: **a.** protocolo AXCM: Acepromazina (2mg/Kg) + Xilazina (10mg/Kg) + Cetamina (100mg/Kg) + Meloxicam (10mg/Kg). **b.** protocolo AXCT: Acepromazina (2mg/Kg) + Xilazina (2,5mg/Kg) + Cetamina (150mg/Kg) + Tramadol (10mg/Kg).

Nota: Animais com 08 semanas de idade. M: machos. F: Fêmeas. Resultados expressos com erro padrão (SEM). $p < 0,05^*$.

Para o protocolo AXCM sem suporte de oxigênio houve diferença estatística no tempo de anestesia entre os sexos (Gráfico 2.a), tendo as fêmeas permanecido em anestesia cirúrgica por, em média, 1h20 (28 minutos a mais do que os machos). Ao fornecermos o suporte de oxigênio também observamos essa diferença, entretanto, reduzida para 13 minutos, ou seja, os machos permaneceram mais tempo anestesiados (Gráfico 2.b). Não foi observada diferença estatística entre machos e fêmeas quanto ao período de recuperação anestésica com ou sem suporte de oxigênio. Entretanto, pudemos observar que quando houve o aporte de oxigênio tanto machos quanto fêmeas demoraram mais tempo para recuperar a habilidade de caminhar (Gráficos 2.c e 2.d).

Gráfico 2: Comparação dos tempos de anestesia e recuperação, entre machos e fêmeas de hamsters, submetidos ao protocolo AXCM, com ou sem suporte de oxigênio



Fonte: Seabra (2019).

Legenda: **a.** Período de anestesia cirúrgica sem oxigênio. $p < 0,0005^{***}$; **b.** Período de anestesia cirúrgica com oxigênio. $p < 0,05^*$; **c.** Período de recuperação sem oxigênio. $p > 0,05$; **d.** Período de recuperação com oxigênio. $p > 0,05$. Protocolo AXCM: Acepromazina (2mg/Kg) + Xilazina (10mg/Kg) + Cetamina (100mg/Kg) + Meloxicam (10mg/Kg).

Nota: Animais com 08 semanas de idade. M: machos. F: Fêmeas. Resultados expressos com erro padrão (SEM).

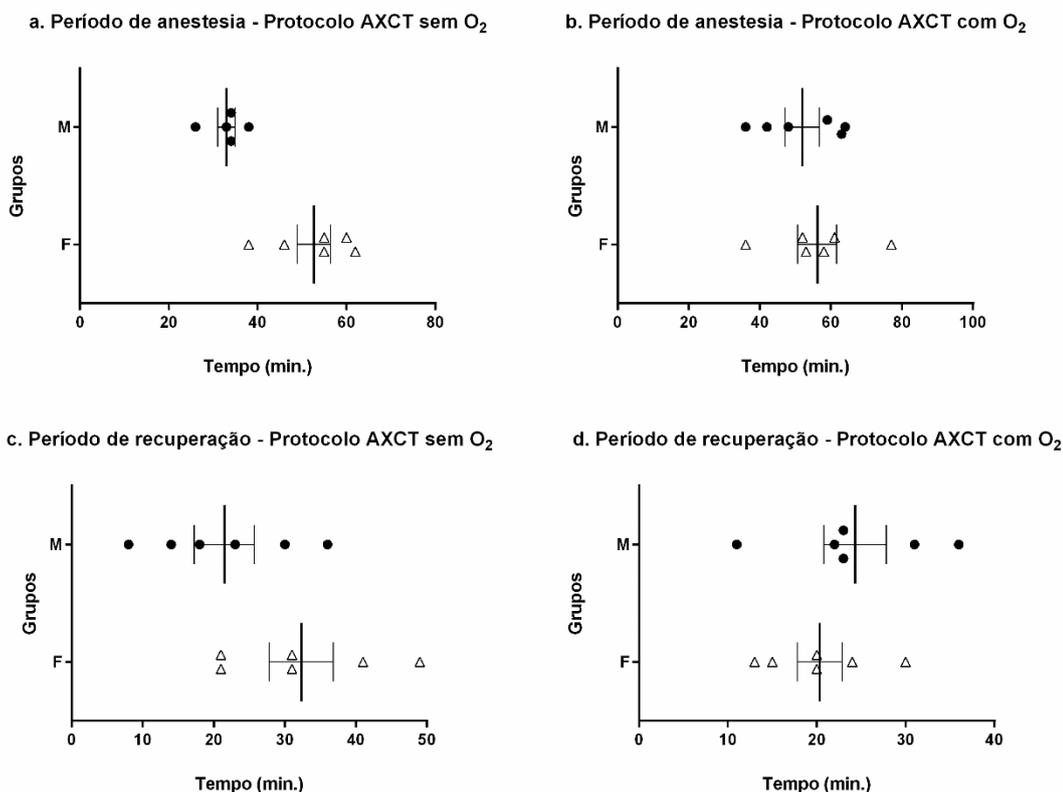
Fêmeas submetidas ao protocolo AXCT e que não receberam suporte de oxigênio permaneceram anestesiadas por um período médio de 52 minutos, 19,7 minutos a mais do que os machos (Gráfico 3.a). Quando o oxigênio foi fornecido houve aumento significativo no tempo de anestesia cirúrgica dos machos (Gráfico 3.b) e a diferença estatística entre os sexos não foi mais detectada.

Não foram observadas diferenças estatísticas nos tempos de recuperação, entre machos e fêmeas, no protocolo AXCT, com ou sem suporte de oxigênio (Gráficos 3.c e 3.d).

A Tabela 6 apresenta dados referentes a margem de segurança, perda de reflexos monitorados e tempos de anestesia de machos e fêmeas de hamsters

submetidos aos protocolos anestésicos AXCT ou AXCM com e sem suporte de oxigênio.

Gráfico 3: Comparação dos tempos de anestesia e recuperação, entre machos e fêmeas de hamsters, submetidos ao protocolo AXCT, com ou sem suporte de oxigênio



Fonte: Seabra (2019).

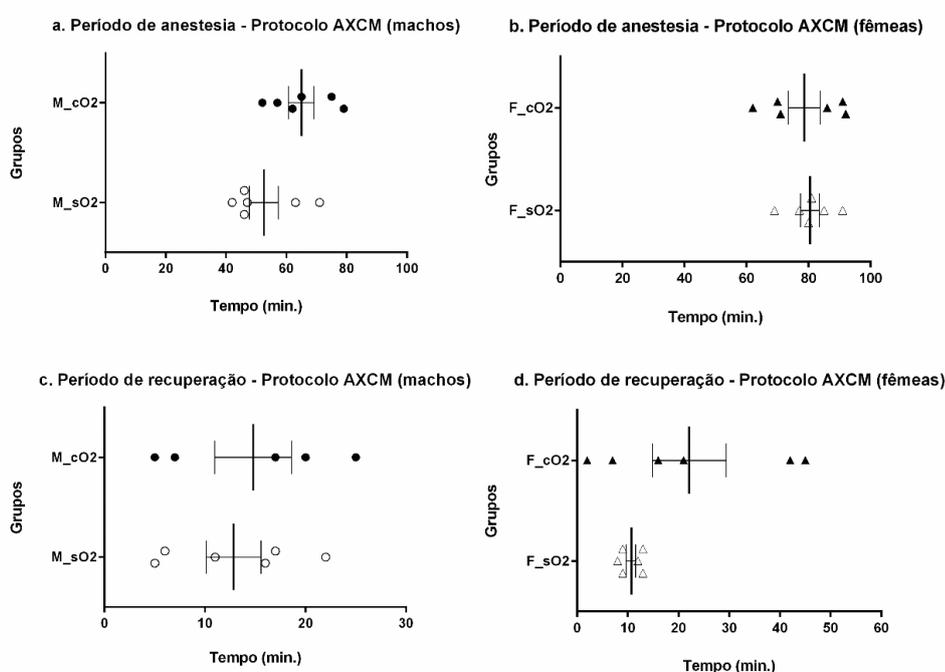
Legenda: **a.** Período de anestesia cirúrgica sem oxigênio. $p < 0,0005^{***}$; **b.** Período de anestesia cirúrgica com oxigênio. $p > 0,05$; **c.** Período de recuperação sem oxigênio. $p > 0,05$; **d.** Período de recuperação com oxigênio. $p > 0,05$. Protocolo AXCT: Acepromazina (2mg/Kg) + Xilazina (2,5mg/Kg) + Cetamina (150mg/Kg) + Tramadol (10mg/Kg).

Nota: Animais com 08 semanas de idade. M: machos. F: Fêmeas. Resultados expressos com erro padrão (SEM).

Comparando-se os gêneros, com e sem suporte de oxigênio, observamos que os machos apresentam diferença estatística no tempo de anestesia nos dois protocolos testados (Gráfico 4.a e 5.a), sendo que os que receberam suporte de oxigênio permaneceram em plano cirúrgico por mais tempo. Os valores registrados para fêmeas, com ou sem suporte de oxigênio, não demonstraram diferença estatística no tempo de anestesia tanto para o protocolo AXCM como para o protocolo AXCT (Gráfico 4.b e 5.b).

Já quanto ao período de recuperação anestésica somente foi identificada diferença entre fêmeas submetidas ao protocolo AXCT, onde os animais que não receberam oxigênio demoraram mais tempo para se recuperar (Gráficos 4.c, 4.d, 5.c e 5d). Entretanto, apesar de não ter sido identificada diferença entre fêmeas no protocolo AXCM, podemos observar que aquelas que não receberam suporte de oxigênio tiveram valores mais homogêneos e demoraram menor intervalo de tempo para restabelecer sua capacidade de caminhar. Resultado inverso foi observado para as fêmeas do grupo AXCT.

Gráfico 4: Comparação dos tempos de anestesia e recuperação, com ou sem suporte de oxigênio, entre hamsters de mesmo sexo submetidos ao protocolo AXCM



Fonte: Seabra (2019).

Legenda: **a.** Período de anestesia cirúrgica: comparação entre machos. $p < 0,05^*$; **b.** Período de anestesia cirúrgica: comparação entre fêmeas. $p > 0,05$; **c.** Período de recuperação: comparação entre machos. $p > 0,05$; **d.** Período de recuperação: comparação entre fêmeas. $p > 0,05$. Protocolo AXCM: Acepromazina (2mg/Kg) + Xilazina (10mg/Kg) + Cetamina (100mg/Kg) + Meloxicam (10mg/Kg).

Nota: Animais com 08 semanas de idade. M: machos. F: Fêmeas. Resultados expressos com erro padrão (SEM).

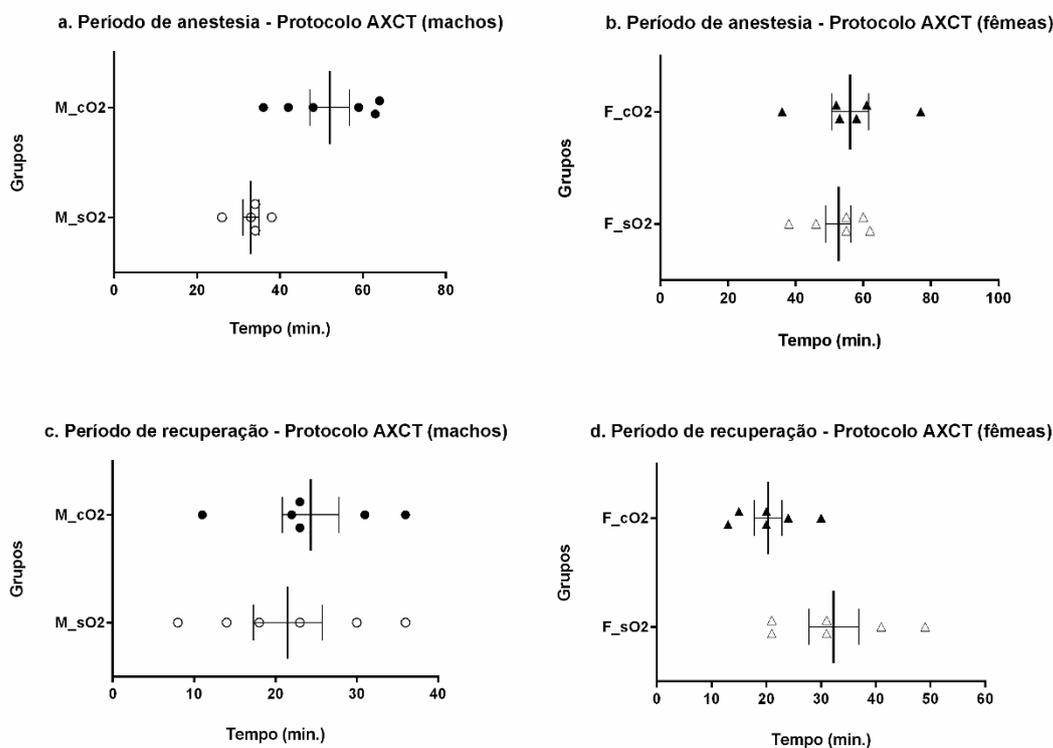
Tabela 6 - Margem de segurança, reflexos e tempos de anestesia (minutos) de machos e fêmeas de hamsters submetidos aos protocolos anestésicos AXCT ou AXCM com e sem suporte de oxigênio

Protocolo anestésico	AXCT sem suporte de O ₂		AXCT com suporte de O ₂		AXCM sem suporte de O ₂		AXCM com suporte de O ₂	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
Margem de segurança								
Tolerância cirúrgica	0% (0/6)	0% (0/6)	0% (0/6)	0% (0/6)	0% (0/6)	0% (0/6)	0% (0/6)	0% (0/6)
Porcentagem de óbito	0% (0/6)	0% (0/6)	0% (0/6)	0% (0/6)	0% (0/6)	0% (0/6)	0% (0/6)	0% (0/6)
Perda de reflexos								
Endireitamento	100% (6/6)	100% (6/6)	100% (6/6)	100% (6/6)	100% (6/6)	100% (6/6)	100% (6/6)	100% (6/6)
Reflexo podal	100% (6/6)	100% (6/6)	100% (6/6)	100% (6/6)	100% (6/6)	100% (6/6)	100% (6/6)	100% (6/6)
Reflexo palpebral	100% (6/6)	100% (6/6)	100% (6/6)	100% (6/6)	100% (6/6)	100% (6/6)	100% (6/6)	100% (6/6)
Reflexo auricular	50% (3/6)	0% (0/6)	17% (1/6)	0% (0/6)	67% (4/6)	100% (6/6)	83% (5/6)	100% (6/6)
Tempos anestésicos								
Indução	13.00±07.09	06.50±00.59	10.30±03.37	08.50±01.56	11.30±08.11	04.10±01.10	08.00±03.35	06.40±02.15
Anestesia Cirúrgica	41.30±21.11	52.40±09.04	52.00±11.43	56.10±13.23	52.30±11.38	80.30±07.25	60.05±10.22	78.40±12.37
Recuperação	21.30±10.21	32.20±11.05	24.20±08.34	20.20±06.09	12.50±06.41	10.40±02.15	25.36±27.18	22.10±17.50

Fonte: Seabra (2019).

Legenda: Tempos anestésicos: valores relativos as médias ± desvio padrão.

Gráfico 5: Comparação dos tempos de anestesia e recuperação, com ou sem suporte de oxigênio, entre hamsters de mesmo sexo submetidos ao protocolo AXCT



Fonte: Seabra (2019).

Legenda: **a.** Período de anestesia cirúrgica: comparação entre machos. $p < 0,05^*$; **b.** Período de anestesia cirúrgica: comparação entre fêmeas. $p > 0,05$; **c.** Período de recuperação: comparação entre machos. $p > 0,05$; **d.** Período de recuperação: comparação entre fêmeas. $p < 0,05^*$. Protocolo AXCT: Acepromazina (2mg/Kg) + Xilazina (2,5mg/Kg) + Cetamina (150mg/Kg) + Tramadol (10mg/Kg).

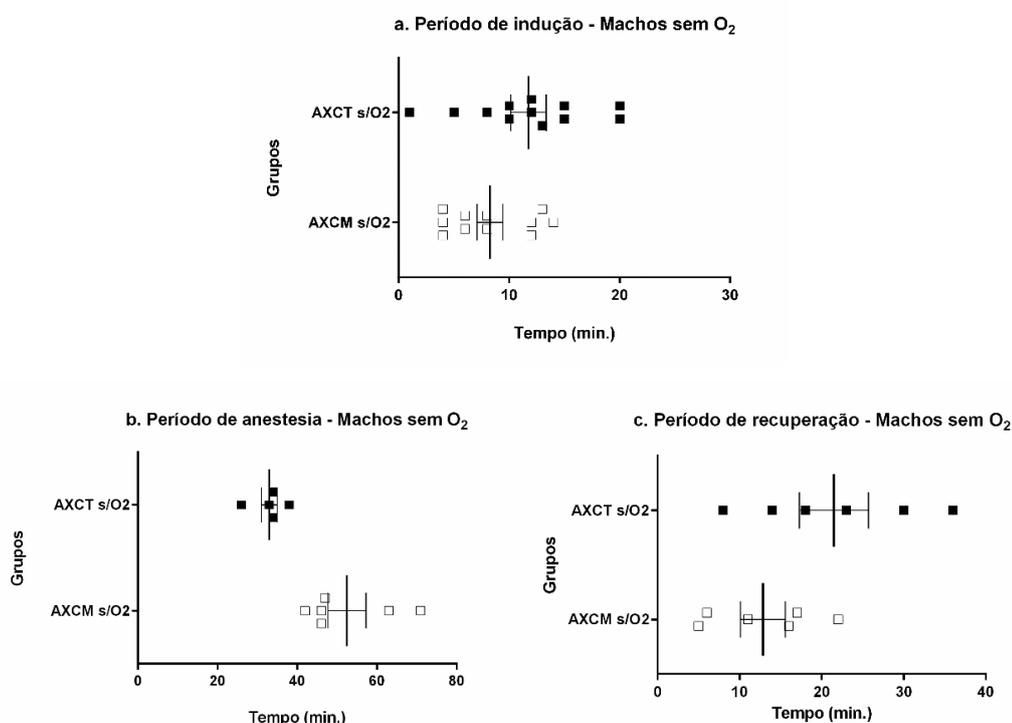
Nota: Animais com 08 semanas de idade. M: machos. F: Fêmeas. Resultados expressos com erro padrão (SEM).

Por último, ao compararmos os valores de cada um dos gêneros quando submetidos a diferentes protocolos temos que:

- i. Machos do protocolo AXCT tiveram maior tempo de indução e maior variação entre os indivíduos (Gráfico 6.a);
- ii. Machos sem suporte de oxigênio, submetidos ao protocolo AXCM permaneceram em anestesia cirúrgica por, em média, 19,5 minutos a mais do que os submetidos ao protocolo AXCT nas mesmas condições (Gráfico 6.b);
- iii. Ao fornecermos oxigênio essa diferença foi reduzida para 13 minutos. Machos do protocolo AXCT tiveram aumento do período de anestesia cirúrgica em um valor médio aproximado de 20 minutos (Gráfico 7.a);

- iv. Não foi identificada diferença estatística no período de recuperação entre os machos anestesiados com o protocolo AXCM ou AXCT, sem oxigênio, entretanto, machos submetidos ao protocolo AXCT apresentaram maior variabilidade individual, levando até 36 minutos para se recuperarem (Gráfico 6.c);
- v. Ao acrescentarmos oxigênio a diferença aparece, com aumento médio de 12 minutos no tempo de recuperação dos machos submetidos ao protocolo AXCM (Gráfico 7.b);

Gráfico 6: Comparação dos tempos de indução, anestesia e recuperação, sem suporte de oxigênio, entre hamsters machos submetidos a protocolos distintos



Fonte: Seabra (2019).

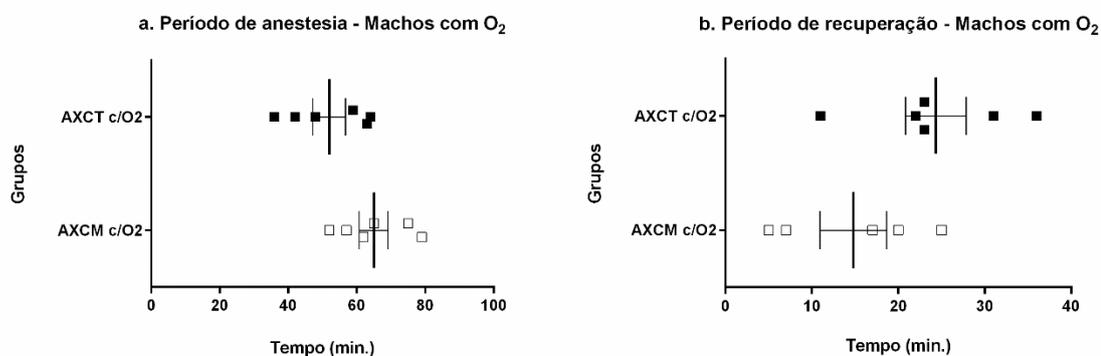
Legenda: **a.** Período de indução. $p < 0,05^*$; **b.** Período de anestesia cirúrgica. $p < 0,005^{**}$; **c.** Período de recuperação. $p > 0,05$. Protocolo AXCT: Acepromazina (2mg/Kg) + Xilazina (2,5mg/Kg) + Cetamina (150mg/Kg) + Tramadol (10mg/Kg). Protocolo AXCM: Acepromazina (2mg/Kg) + Xilazina (10mg/Kg) + Cetamina (100mg/Kg) + Meloxicam (10mg/Kg).

Nota: Animais com 08 semanas de idade. M: machos. F: Fêmeas. Resultados expressos com erro padrão (SEM).

- vi. Fêmeas apresentaram diferença no período de indução, anestesia e recuperação, quando não receberam suporte de oxigênio. Os tempos de indução e recuperação foram maiores no protocolo AXCT (Gráfico 8.a e 8.c).

- As fêmeas submetidas ao protocolo AXCM permaneceram mais tempo anestesiadas (Gráfico 8.b) com uma diferença média de 28 minutos;
- vii. Ao acrescentarmos oxigênio a diferença estatística entre os tempos de anestesia permanece, porém é reduzida para 13 minutos (Gráfico 9.a);
- viii. Não há diferença estatística no tempo de recuperação das fêmeas após suplementação com oxigênio, entretanto a variação individual aumenta consideravelmente (Gráfico 9.b).

Gráfico 7: Comparação dos tempos de anestesia e recuperação, com suporte de oxigênio, entre hamsters machos submetidos a protocolos distintos

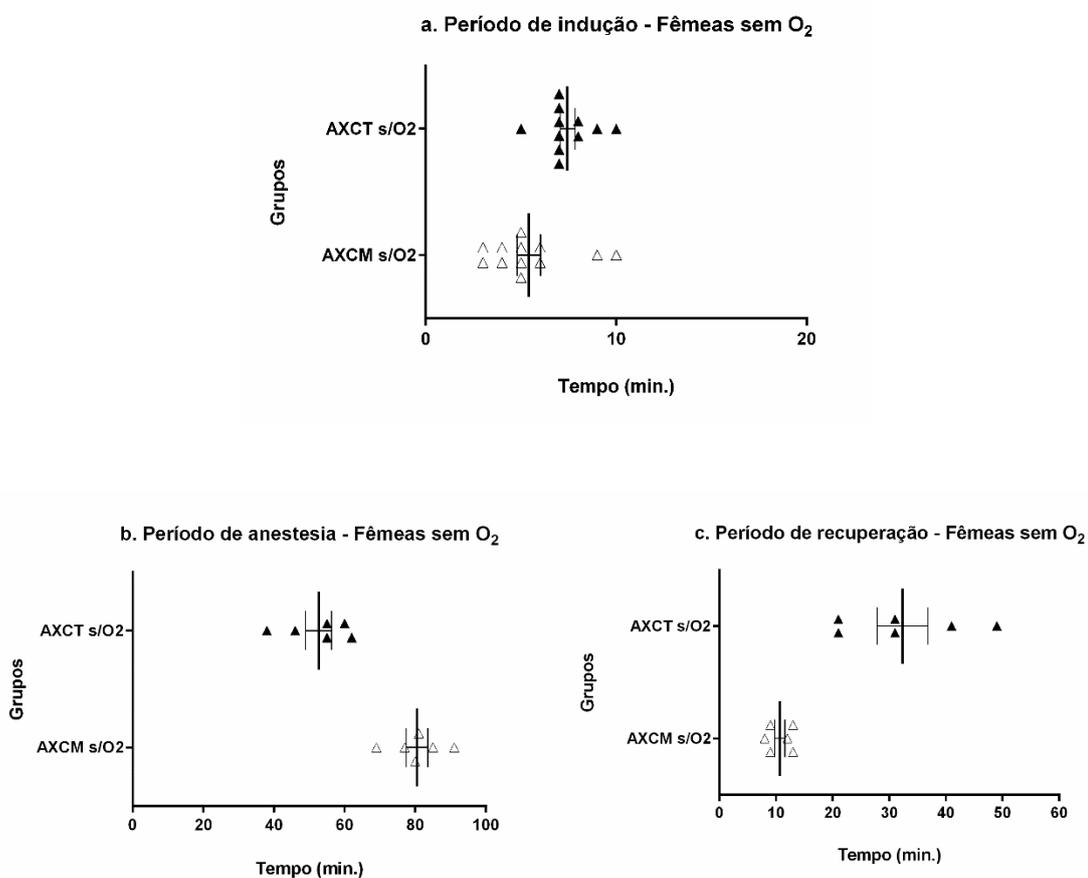


Fonte: Seabra (2019).

Legenda: **a.** Período de anestesia cirúrgica **b.** Período de recuperação. $p < 0,05^*$. Protocolo AXCT: Acepromazina (2mg/Kg) + Xilazina (2,5mg/Kg) + Cetamina (150mg/Kg) + Tramadol (10mg/Kg). Protocolo AXCM: Acepromazina (2mg/Kg) + Xilazina (10mg/Kg) + Cetamina (100mg/Kg) + Meloxicam (10mg/Kg).

Nota: Animais com 08 semanas de idade. M: machos. F: Fêmeas. Resultados expressos com erro padrão (SEM).

Gráfico 8: Comparação dos tempos de indução, anestesia e recuperação, sem suporte de oxigênio, entre hamsters fêmeas submetidas a protocolos distintos

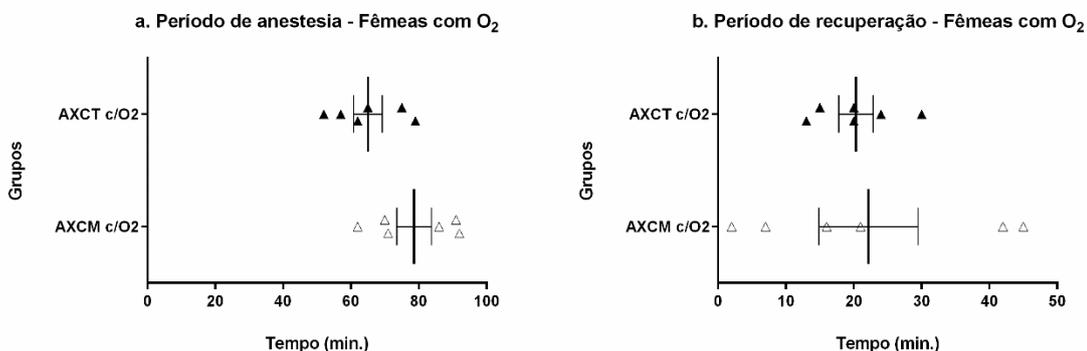


Fonte: Seabra (2019).

Legenda: **a.** Período de indução. $p < 0,005^{**}$; **b.** Período de anestesia cirúrgica. $p < 0,0005^{***}$; **c.** Período de recuperação. $p < 0,0005^{***}$. Protocolo AXCT: Acepromazina (2mg/Kg) + Xilazina (2,5mg/Kg) + Cetamina (150mg/Kg) + Tramadol (10mg/Kg). Protocolo AXCM: Acepromazina (2mg/Kg) + Xilazina (10mg/Kg) + Cetamina (100mg/Kg) + Meloxicam (10mg/Kg).

Nota: Animais com 08 semanas de idade. M: machos. F: Fêmeas. Resultados expressos com erro padrão (SEM).

Gráfico 9: Comparação dos tempos de anestesia e recuperação, com suporte de oxigênio, entre hamsters fêmeas submetidas a protocolos distintos



Fonte: Seabra (2019).

Legenda: **a.** Período de anestesia cirúrgica. $p < 0,05^*$; **b.** Período de recuperação. $p > 0,05$. Protocolo AXCT: Acepromazina (2mg/Kg) + Xilazina (2,5mg/Kg) + Cetamina (150mg/Kg) + Tramadol (10mg/Kg). Protocolo AXCM: Acepromazina (2mg/Kg) + Xilazina (10mg/Kg) + Cetamina (100mg/Kg) + Meloxicam (10mg/Kg).

Nota: Animais com 08 semanas de idade. M: machos. F: Fêmeas. Resultados expressos com erro padrão (SEM).

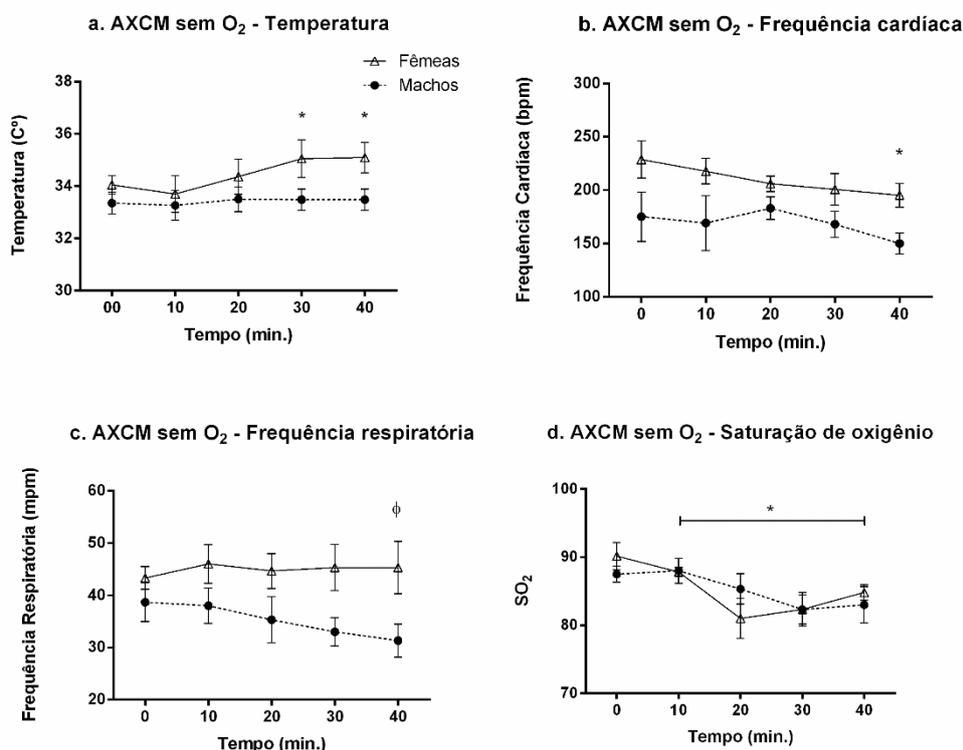
Ambos os protocolos se mostraram seguros, sem ocorrência de óbitos. 100% dos machos e das fêmeas perderam os reflexos de endireitamento, podal e palpebral. Já o reflexo auricular esteve presente na maioria dos animais submetidos ao protocolo AXCT. Nenhuma das fêmeas perdeu o referido reflexo e somente 50% dos machos que não receberam oxigênio e 17% dos que receberam, tiveram o reflexo ausente (Tabela 6). Quando submetidos ao protocolo AXCM o reflexo auricular esteve ausente em todas as fêmeas e em uma maior porcentagem de machos (67% daqueles que não receberam suporte de oxigênio e 83% daqueles que receberam).

6.2 PARÂMETROS FISIOLÓGICOS

Comparando-se machos e fêmeas submetidos ao protocolo AXCM sem suporte de oxigênio observamos que as médias dos valores relativos a temperatura, frequência cardíaca e frequência respiratória mantiveram-se mais altos para as fêmeas durante todo o período anestésico. A média das temperaturas se mostrou até 1,6°C maior para fêmeas. Quando os valores foram submetidos a análise pelo teste ANOVA de 2 vias a temperatura (Gráfico 10.a) e a frequência cardíaca (Gráfico 10.b) apresentaram diferença estatística entre o início e o final do período anestésico. A

diferença das médias da frequência respiratória entre machos e fêmeas foi estatisticamente significativa aos 40 minutos, com valores de 31,3 e 45,3, respectivamente (Gráfico 10.c). Com relação a saturação de oxigênio os valores decresceram a partir dos 10 minutos até o final do período anestésico (Gráfico 10.d). A queda de saturação foi mais acentuada nas fêmeas.

Gráfico 10: Variação de parâmetros fisiológicos entre machos e fêmeas de hamsters submetidos ao protocolo AXCM sem suporte de oxigênio



Fonte: Seabra (2019).

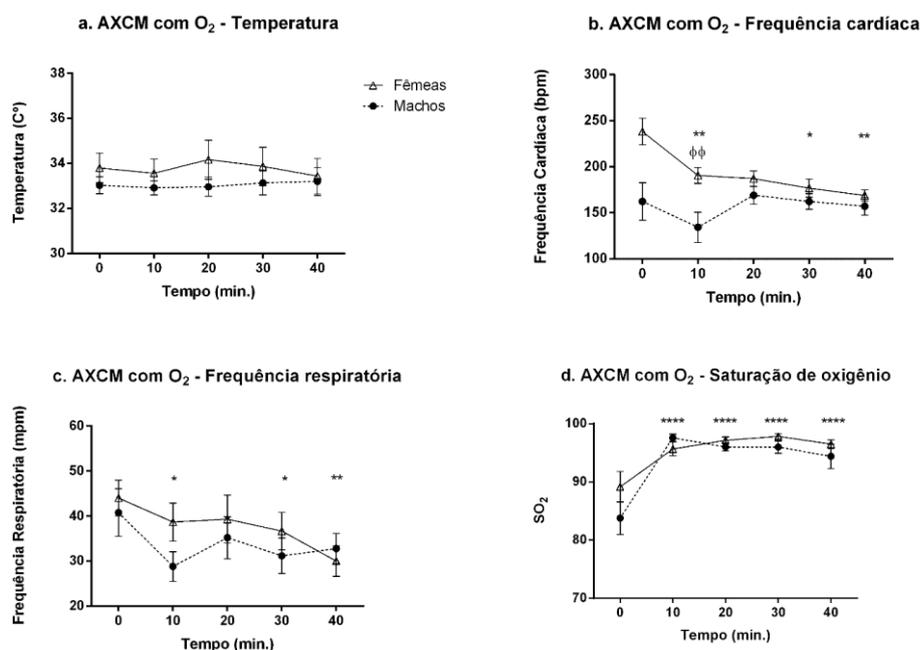
Legenda: **a.** Temperatura; **b.** Frequência cardíaca; **c.** Frequência respiratória; **d.** Saturação de oxigênio. Resultados expressos com erro padrão (SEM). n= 6 animais. p<0,05. Tempo zero (0) indica os valores basais. * variação no período vs. valores basais; ϕ machos vs. fêmeas. Protocolo AXCM: Acepromazina (2mg/Kg) + Xilazina (10mg/Kg) + Cetamina (100mg/Kg) + Meloxicam (10mg/Kg).

Nota: Animais com 08 semanas de idade.

Quando submetidos ao protocolo AXCM com suporte de oxigênio observamos, também, que as médias dos valores relativos a temperatura, frequência cardíaca e frequência respiratória mantiveram-se mais altas para as fêmeas durante todo o período anestésico. Ao compararmos os valores pelo método ANOVA de 2 vias observamos que houve diferença estatística na frequência cardíaca entre os sexos no tempo 10. Para esse mesmo parâmetro, foi identificada

diferença estatística aos 10, 30 e 40 minutos com relação aos valores basais (Gráfico 11.b). A frequência cardíaca teve uma queda inicial acentuada e após o fornecimento de oxigênio se elevou (machos). Quanto a frequência respiratória, houve diferença entre o início e final do período anestésico com queda nos valores para ambos os sexos (Gráfico 11.c). A temperatura não apresentou diferença estatística entre os sexos ou em relação aos valores basais (Gráfico 11.a). Por último, a saturação de oxigênio apresentou diferença significativa a partir dos 10 minutos, momento em que os animais já recebiam suporte de oxigênio (Gráfico 11.d).

Gráfico 11: Variação de parâmetros fisiológicos entre machos e fêmeas de hamsters submetidos ao protocolo AXCM com suporte de oxigênio



Fonte: Seabra (2019).

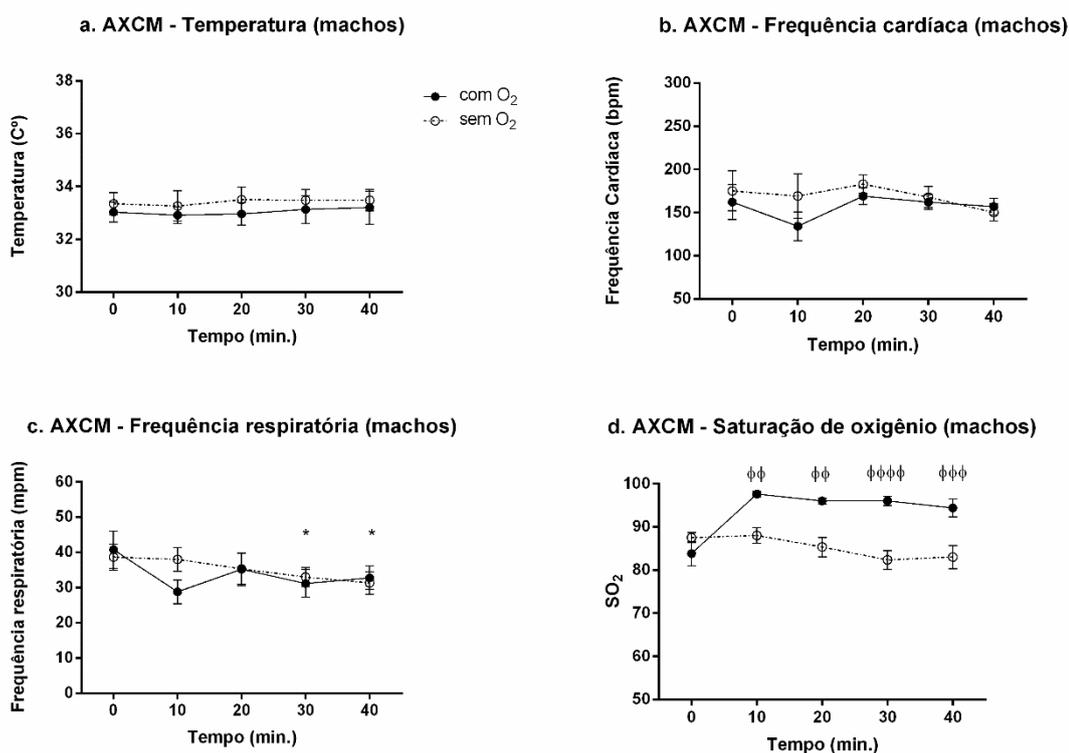
Legenda: **a.** Temperatura; **b.** Frequência cardíaca; **c.** Frequência respiratória; **d.** Saturação de oxigênio. Resultados expressos com erro padrão (SEM). n= 6 animais. p<0,05. Tempo zero (0) indica os valores basais. * variação no período vs. valores basais; φ machos vs. fêmeas. Protocolo AXCM: Acepromazina (2mg/Kg) + Xilazina (10mg/Kg) + Cetamina (100mg/Kg) + Meloxicam (10mg/Kg).

Nota: Animais com 08 semanas de idade.

Comparando-se os gêneros que receberam ou não o suporte de oxigênio observamos que houve diferença estatística com relação aos valores de saturação de oxigênio, com melhora significativa nos valores de oxigenação tecidual nos animais suplementados com oxigênio (Gráficos 12.d e 12.d). Machos apresentaram,

ainda, diferença estatística com relação aos valores de frequência respiratória (Gráfico 12.c), com queda ao final do período anestésico, para ambos os grupos. As fêmeas, por sua vez, apresentaram queda de frequência cardíaca em ambos os grupos, sendo mais acentuada no grupo que recebeu oxigênio (Gráfico 12.b).

Gráfico 12: Variação de parâmetros fisiológicos entre machos de hamsters submetidos ao protocolo AXCM com ou sem suporte de oxigênio

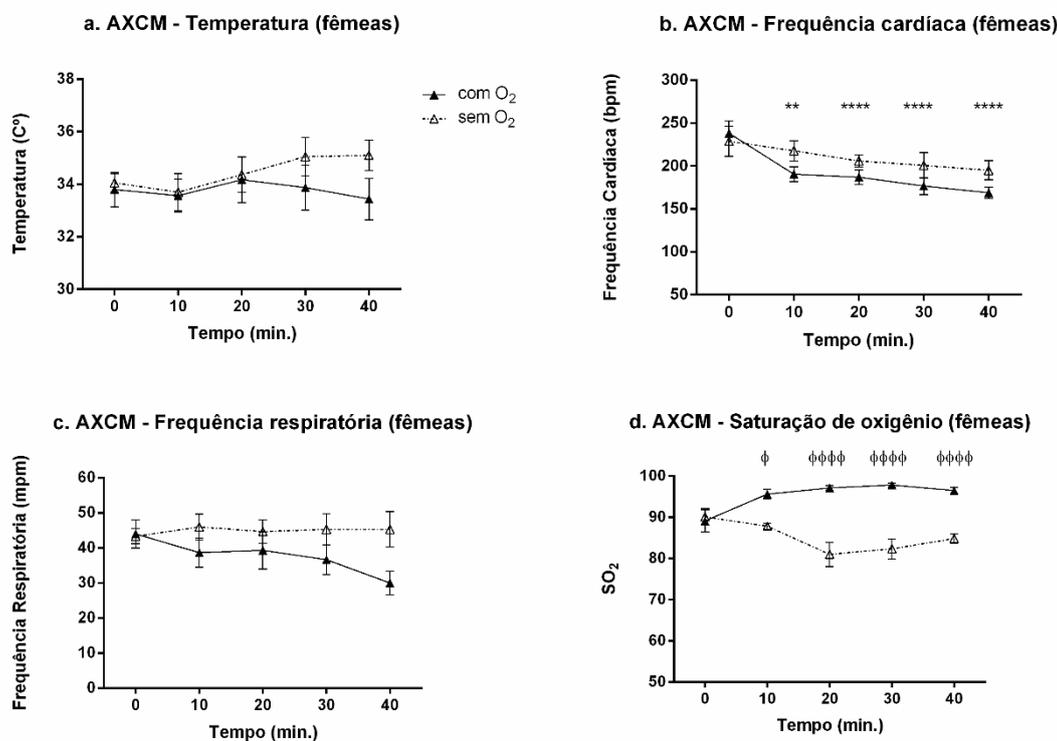


Fonte: Seabra (2019).

Legenda: a. Temperatura; b. Frequência cardíaca; c. Frequência respiratória; d. Saturação de oxigênio. Resultados expressos com erro padrão (SEM). n= 6 animais. p<0,05. Tempo zero (0) indica os valores basais. * variação no período vs. valores basais; φ machos com suporte de oxigênio vs. machos sem suporte de oxigênio. Protocolo AXCM: Acepromazina (2mg/Kg) + Xilazina (10mg/Kg) + Cetamina (100mg/Kg) + Meloxicam (10mg/Kg).

Nota: Animais com 08 semanas de idade.

Gráfico 13: Variação de parâmetros fisiológicos entre fêmeas de hamsters submetidas ao protocolo AXCM com ou sem suporte de oxigênio



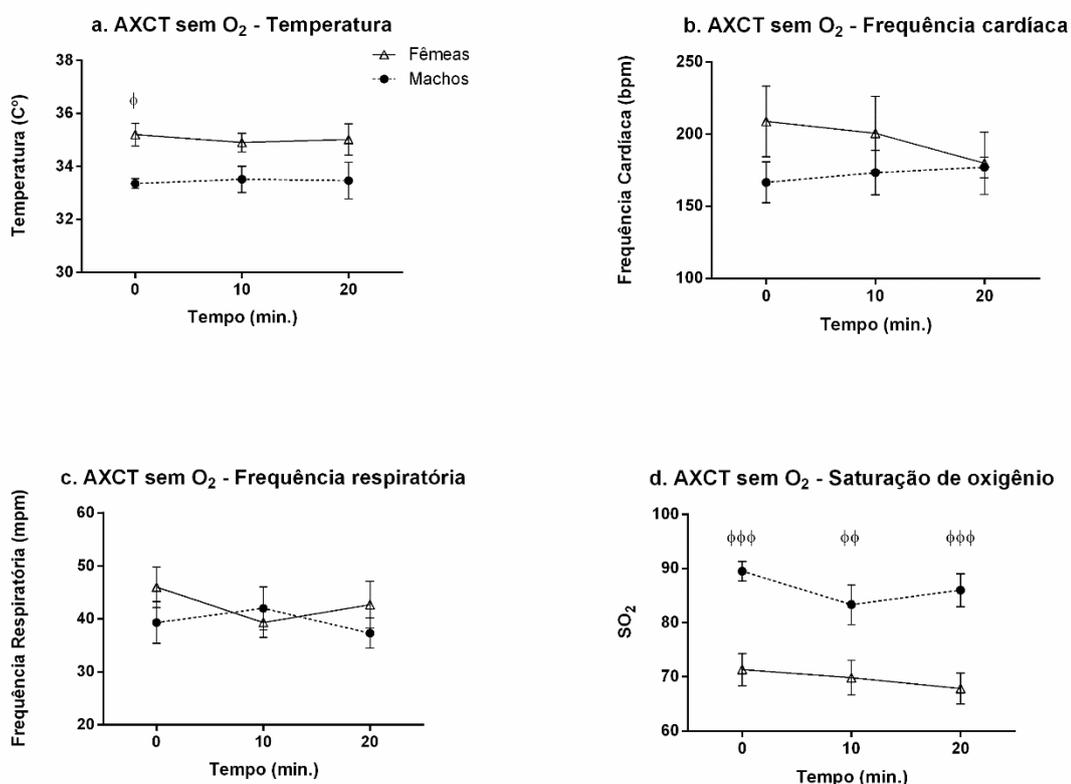
Fonte: Seabra (2019).

Legenda: **a.** Temperatura; **b.** Frequência cardíaca; **c.** Frequência respiratória; **d.** Saturação de oxigênio. Resultados expressos com erro padrão (SEM). n= 6 animais. p<0,05. Tempo zero (0) indica os valores basais. * variação no período vs. valores basais; φ fêmeas com suporte de oxigênio vs. fêmeas sem suporte de oxigênio. Protocolo AXCM: Acepromazina (2mg/Kg) + Xilazina (10mg/Kg) + Cetamina (100mg/Kg) + Meloxicam (10mg/Kg).

Nota: Animais com 08 semanas de idade.

Ao compararmos machos e fêmeas submetidos ao protocolo AXCT sem suporte de oxigênio observamos que os valores de temperatura, frequência cardíaca e frequência respiratória se mantiveram mais elevados para fêmeas do que para machos durante todo o período anestésico, entretanto, a diferença estatística só foi detectada entre a temperatura de machos e fêmeas no tempo 00, com variação média de 1,9°C (Gráfico 14.a a 14.c). Já a saturação de oxigênio não apresentou diferença significativa ao longo do tempo, entretanto, foi criticamente mais baixa para fêmeas durante todo o período anestésico apresentando valores abaixo de 72% (Gráfico 14.d).

Gráfico 14: Variação de parâmetros fisiológicos entre machos e fêmeas de hamsters submetidos ao protocolo AXCT sem suporte de oxigênio



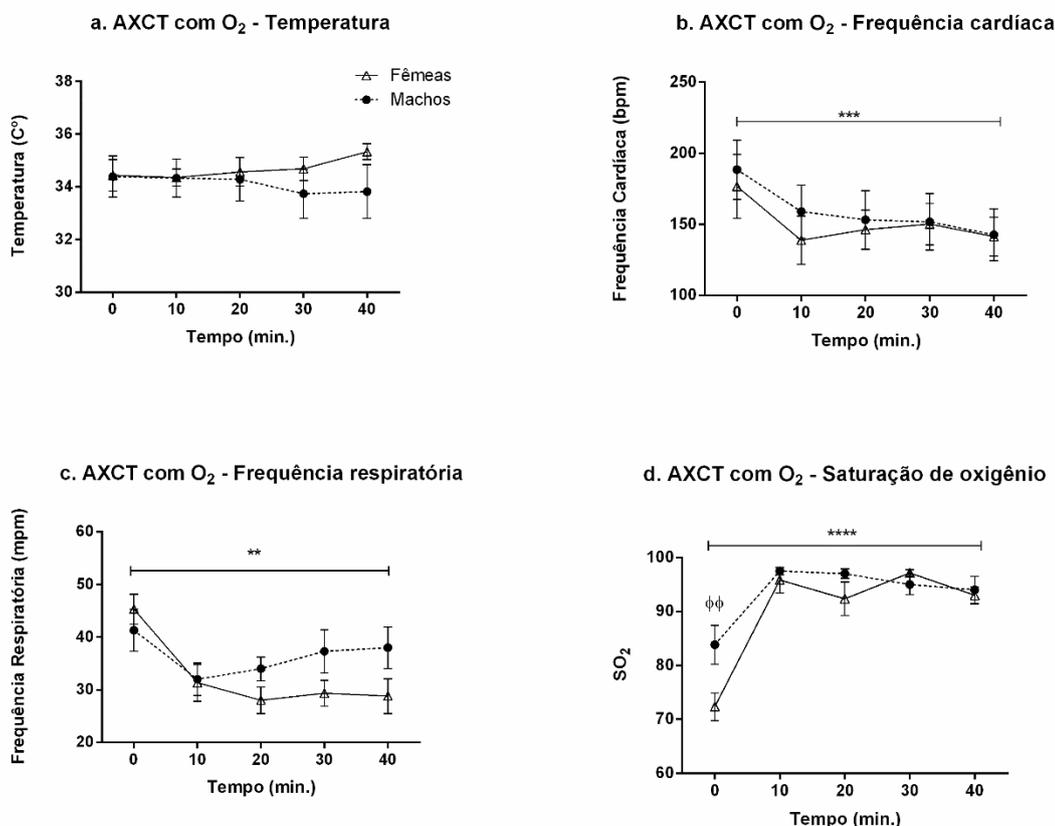
Fonte: Seabra (2019).

Legenda: **a.** Temperatura; **b.** Frequência cardíaca; **c.** Frequência respiratória; **d.** Saturação de oxigênio. Resultados expressos com erro padrão (SEM). n= 6 animais. p<0,05. Tempo zero (0) indica os valores basais. * variação no período vs. valores basais; φ machos vs. fêmeas. Protocolo AXCT: Acepromazina (2mg/Kg) + Xilazina (2,5mg/Kg) + Cetamina (150mg/Kg) + Tramadol (10mg/Kg).

Nota: Animais com 08 semanas de idade.

Quando oferecemos suporte de oxigênio notamos queda na frequência cardíaca ao longo do tempo, para ambos os sexos (Gráfico 15.b). A frequência respiratória apresentou uma queda inicial, sendo que os machos apresentaram elevação nos valores a partir dos 10 minutos de anestesia (Gráfico 15.c). Assim como na análise anterior, a saturação de oxigênio foi criticamente mais baixa para fêmeas no tempo 00. Ainda, houve diferença estatística ao longo do período anestésico com relação ao tempo 00 inicial, para ambos os sexos (Gráfico 15.d). Não houve diferença significativa de temperatura entre machos e fêmeas, ou ao longo do período anestésico (Gráfico 15.a).

Gráfico 15: Variação de parâmetros fisiológicos entre machos e fêmeas de hamsters submetidos ao protocolo AXCT com suporte de oxigênio



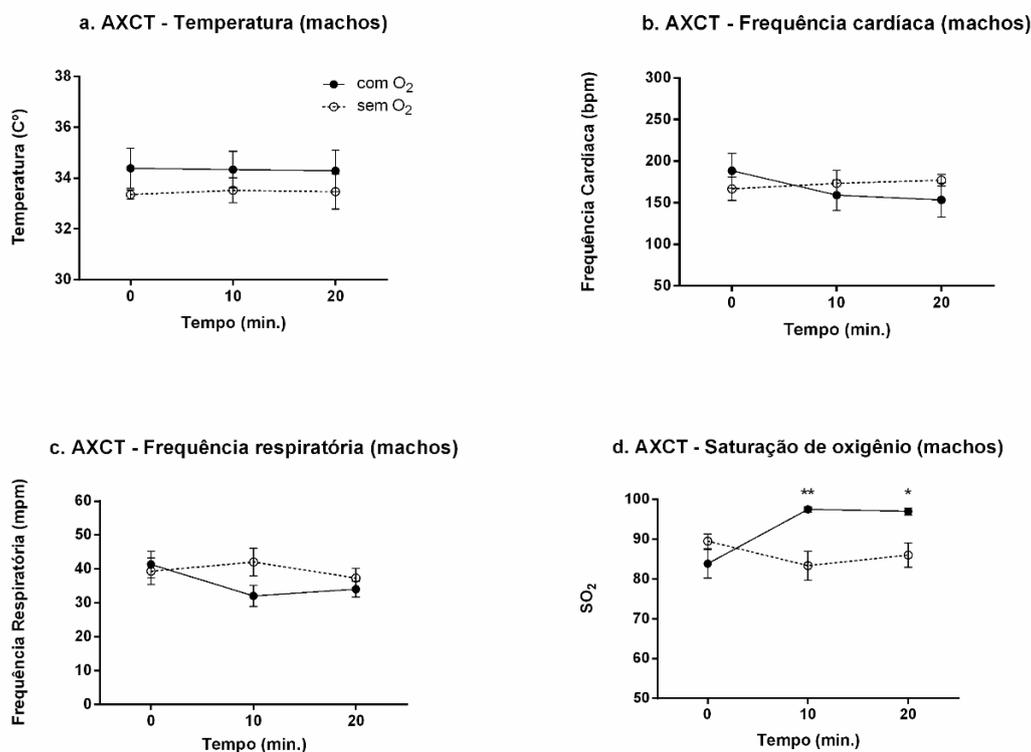
Fonte: Seabra 2019).

Legenda: **a.** Temperatura; **b.** Frequência cardíaca; **c.** Frequência respiratória; **d.** Saturação de oxigênio. Resultados expressos com erro padrão (SEM). n= 6 animais. p<0,05. Tempo zero (0) indica os valores basais. * variação no período vs. valores basais; ϕ machos vs. fêmeas. Protocolo AXCT: Acepromazina (2mg/Kg) + Xilazina (2,5mg/Kg) + Cetamina (150mg/Kg) + Tramadol (10mg/Kg).

Nota: Animais com 08 semanas de idade.

Comparando os valores dos machos submetidos ao protocolo AXCT com ou sem suporte de oxigênio (Gráfico 16) observamos que houve diferença estatística somente no parâmetro de saturação, após o suprimento de oxigênio. Os valores que se apresentavam iguais ou abaixo de 85% mantiveram-se iguais ou acima de 94% após os 10 minutos, quando os machos passaram a receber oxigenação.

Gráfico 16: Variação de parâmetros fisiológicos entre machos de hamsters submetidos ao protocolo AXCT com ou sem suporte de oxigênio



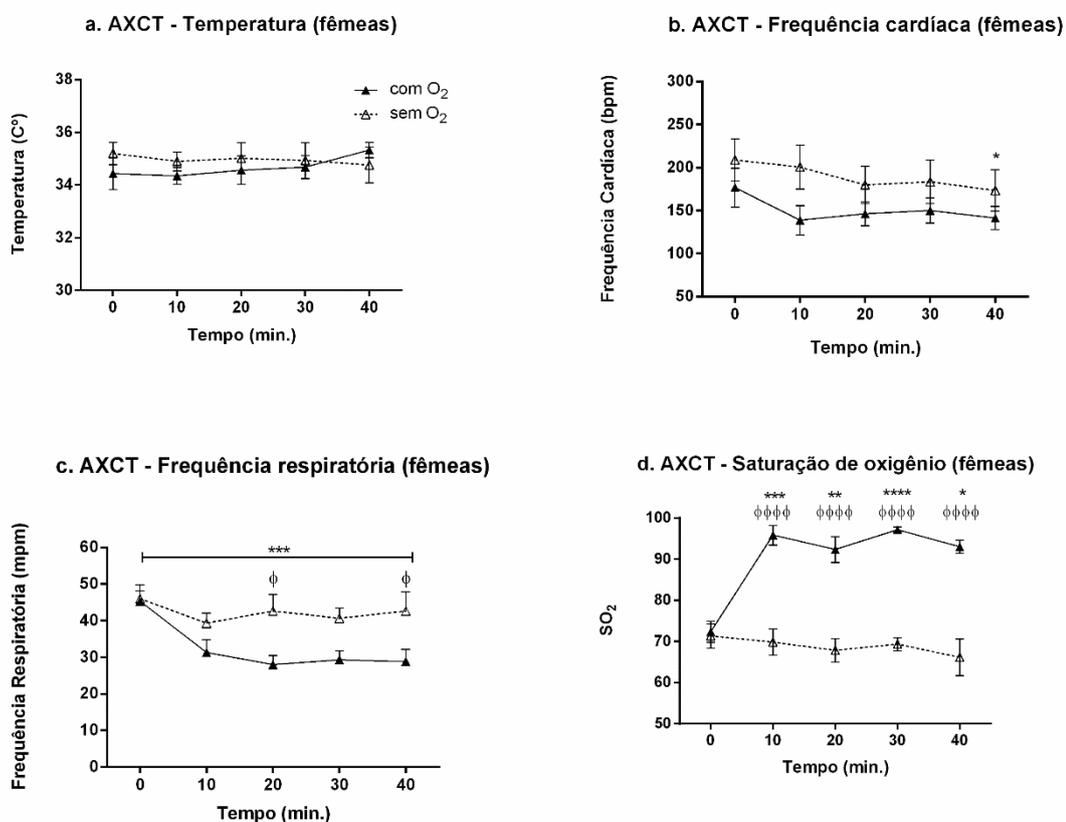
Fonte: Seabra (2019).

Legenda: **a.** Temperatura; **b.** Frequência cardíaca; **c.** Frequência respiratória; **d.** Saturação de oxigênio. Resultados expressos com erro padrão (SEM). n= 6 animais. p<0,05. Tempo zero (0) indica os valores basais. * variação no período vs. valores basais; φ machos com suporte de oxigênio vs. machos sem suporte de oxigênio. Protocolo AXCT: Acepromazina (2mg/Kg) + Xilazina (2,5mg/Kg) + Cetamina (150mg/Kg) + Tramadol (10mg/Kg).

Nota: Animais com 08 semanas de idade.

Comparando os valores das fêmeas com ou sem suporte de oxigênio, não foram observadas diferenças em temperatura (Gráfico 17.a). Houve uma queda de frequência cardíaca ao longo do período anestésico com diferença significativa aos 40 minutos, em ambos os grupos (Gráfico 17.b). A frequência respiratória foi menor nos tempos 20 e 40, para o grupo que recebeu oxigênio, havendo uma queda significativa ao longo do tempo (Gráfico 17.c). A diferença na saturação de oxigênio foi estatisticamente significativa em todos os tempos, a partir dos 10 minutos, entre os dois grupos comparados (Gráfico 17.d), tendo a média dos valores passado de 68,3% para 94,6% para o grupo que recebeu a suplementação. Observamos diferença, também, quando comparamos os valores ao longo do período com os valores basais (tempo 00).

Gráfico 17: Variação de parâmetros fisiológicos entre fêmeas de hamsters submetidas ao protocolo AXCT com ou sem suporte de oxigênio



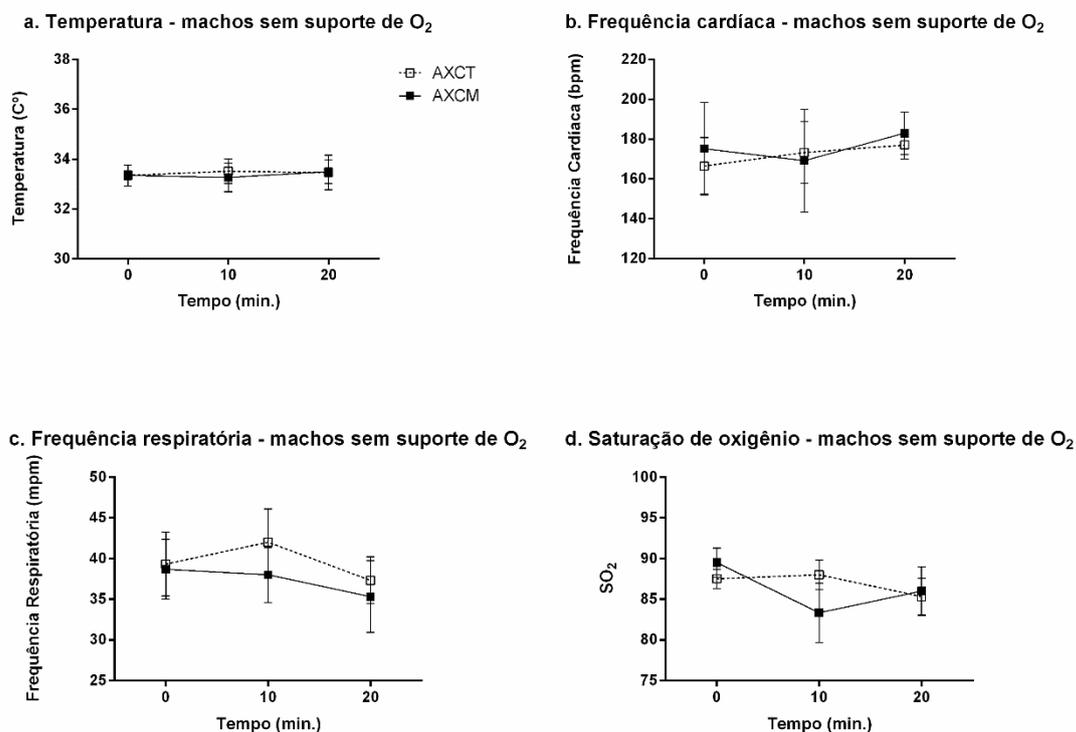
Fonte: Seabra (2019).

Legenda: **a.** Temperatura; **b.** Frequência cardíaca; **c.** Frequência respiratória; **d.** Saturação de oxigênio. Resultados expressos com erro padrão (SEM). n= 6 animais. p<0,05. Tempo zero (0) indica os valores basais. * variação no período vs. valores basais; ϕ fêmeas com suporte de oxigênio vs. fêmeas sem suporte de oxigênio. Protocolo AXCT: Acepromazina (2mg/Kg) + Xilazina (2,5mg/Kg) + Cetamina (150mg/Kg) + Tramadol (10mg/Kg).

Nota: Animais com 08 semanas de idade.

Ao compararmos machos submetidos aos protocolos AXCM e AXCT, não foram observadas diferenças estatísticas em nenhum dos parâmetros fisiológicos, quando submetidos as mesmas condições. Fêmeas apresentaram diferença significativa de saturação quando não houve suporte do oxigênio, com valores muito menores para o protocolo AXCT, durante todo período anestésico.

Gráfico 18: Variação de parâmetros fisiológicos entre machos de hamsters submetidos ao protocolo AXCT ou AXCM sem suporte de oxigênio

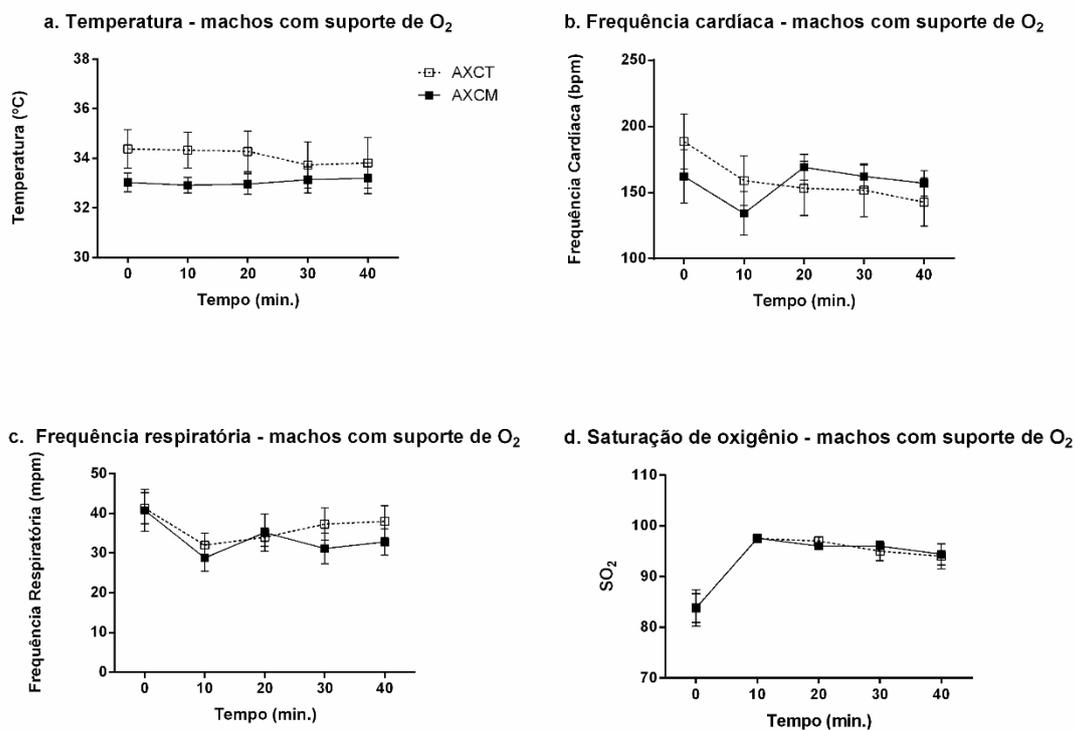


Fonte: Seabra (2019).

Legenda: **a.** Temperatura; **b.** Frequência cardíaca; **c.** Frequência respiratória; **d.** Saturação de oxigênio. Resultados expressos com erro padrão (SEM). n= 6 animais. p<0,05. Tempo zero (0) indica os valores basais. * variação no período vs. valores basais; φ machos AXCT vs. machos AXCM. Protocolo AXCT: Acepromazina (2mg/Kg) + Xilazina (2,5mg/Kg) + Cetamina (150mg/Kg) + Tramadol (10mg/Kg). Protocolo AXCM: Acepromazina (2mg/Kg) + Xilazina (10mg/Kg) + Cetamina (100mg/Kg) + Meloxicam (10mg/Kg).

Nota: Animais com 08 semanas de idade.

Gráfico 19: Variação de parâmetros fisiológicos entre machos de hamsters submetidos ao protocolo AXCT ou AXCM com suporte de oxigênio

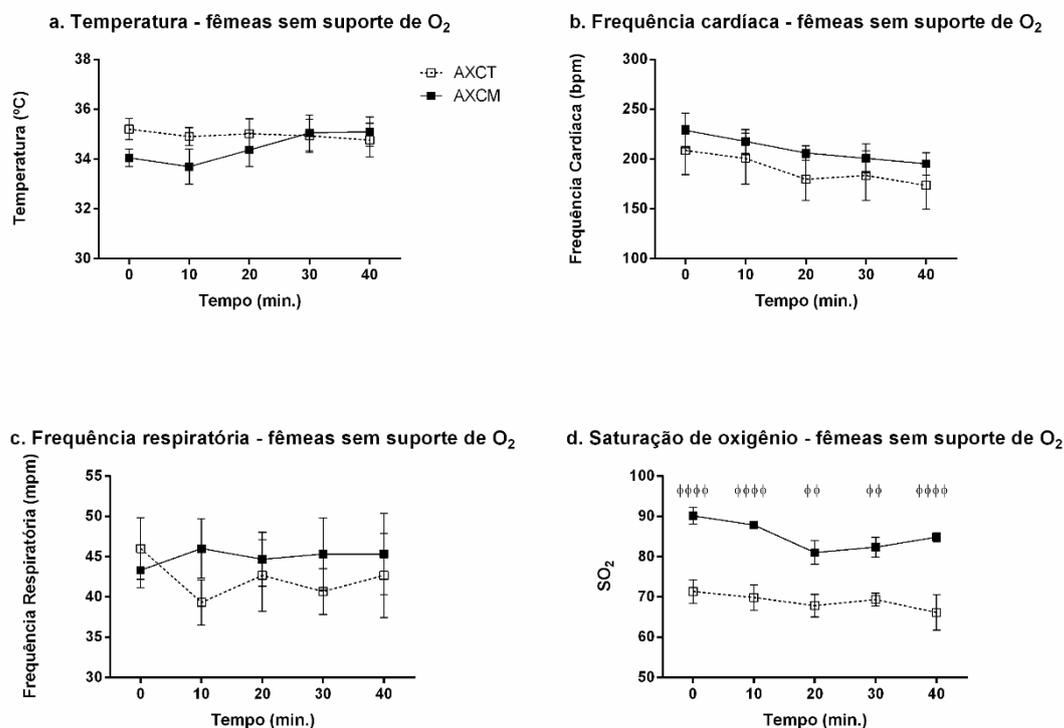


Fonte: Seabra (2019).

Legenda: **a.** Temperatura; **b.** Frequência cardíaca; **c.** Frequência respiratória; **d.** Saturação de oxigênio. Resultados expressos com erro padrão (SEM). n= 6 animais. p<0,05. Tempo zero (0) indica os valores basais. * variação no período vs. valores basais; φ machos AXCT vs. machos AXCM. Protocolo AXCT: Acepromazina (2mg/Kg) + Xilazina (2,5mg/Kg) + Cetamina (150mg/Kg) + Tramadol (10mg/Kg). Protocolo AXCM: Acepromazina (2mg/Kg) + Xilazina (10mg/Kg) + Cetamina (100mg/Kg) + Meloxicam (10mg/Kg).

Nota: Animais com 08 semanas de idade.

Gráfico 20: Variação de parâmetros fisiológicos entre fêmeas de hamsters submetidos ao protocolo AXCT ou AXCM sem suporte de oxigênio

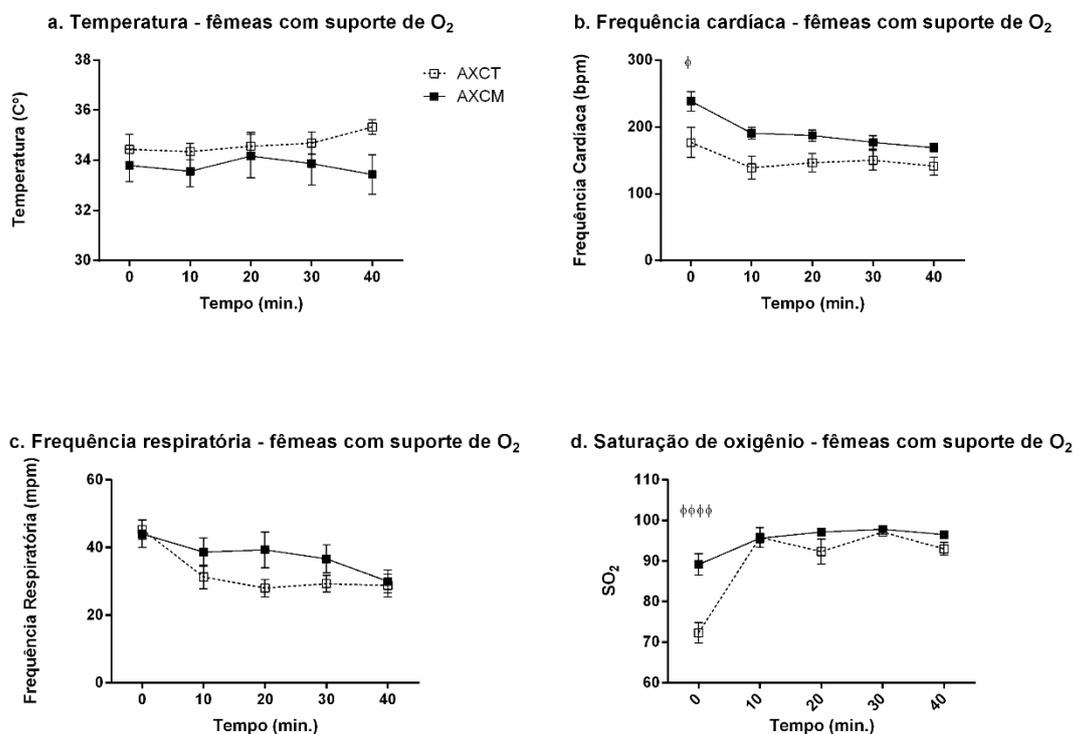


Fonte: Seabra (2019).

Legenda: **a.** Temperatura; **b.** Frequência cardíaca; **c.** Frequência respiratória; **d.** Saturação de oxigênio. Resultados expressos com erro padrão (SEM). n= 6 animais. p<0,05. Tempo zero (0) indica os valores basais. * variação no período vs. valores basais; φ fêmeasAXCT vs. fêmeasAXCM. Protocolo AXCT: Acepromazina (2mg/Kg) + Xilazina (2,5mg/Kg) + Cetamina (150mg/Kg) + Tramadol (10mg/Kg). Protocolo AXCM: Acepromazina (2mg/Kg) + Xilazina (10mg/Kg) + Cetamina (100mg/Kg) + Meloxicam (10mg/Kg).

Nota: Animais com 08 semanas de idade.

Gráfico 21: Variação de parâmetros fisiológicos entre fêmeas de hamsters submetidos ao protocolo AXCT ou AXCM com suporte de oxigênio



Fonte: Seabra (2019).

Legenda: **a.** Temperatura; **b.** Frequência cardíaca; **c.** Frequência respiratória; **d.** Saturação de oxigênio. Resultados expressos com erro padrão (SEM). n= 6 animais. p<0,05. Tempo zero (0) indica os valores basais. * variação no período vs. valores basais; φ fêmeasAXCT vs. fêmeasAXCM. Protocolo AXCT: Acepromazina (2mg/Kg) + Xilazina (2,5mg/Kg) + Cetamina (150mg/Kg) + Tramadol (10mg/Kg). Protocolo AXCM: Acepromazina (2mg/Kg) + Xilazina (10mg/Kg) + Cetamina (100mg/Kg) + Meloxicam (10mg/Kg).

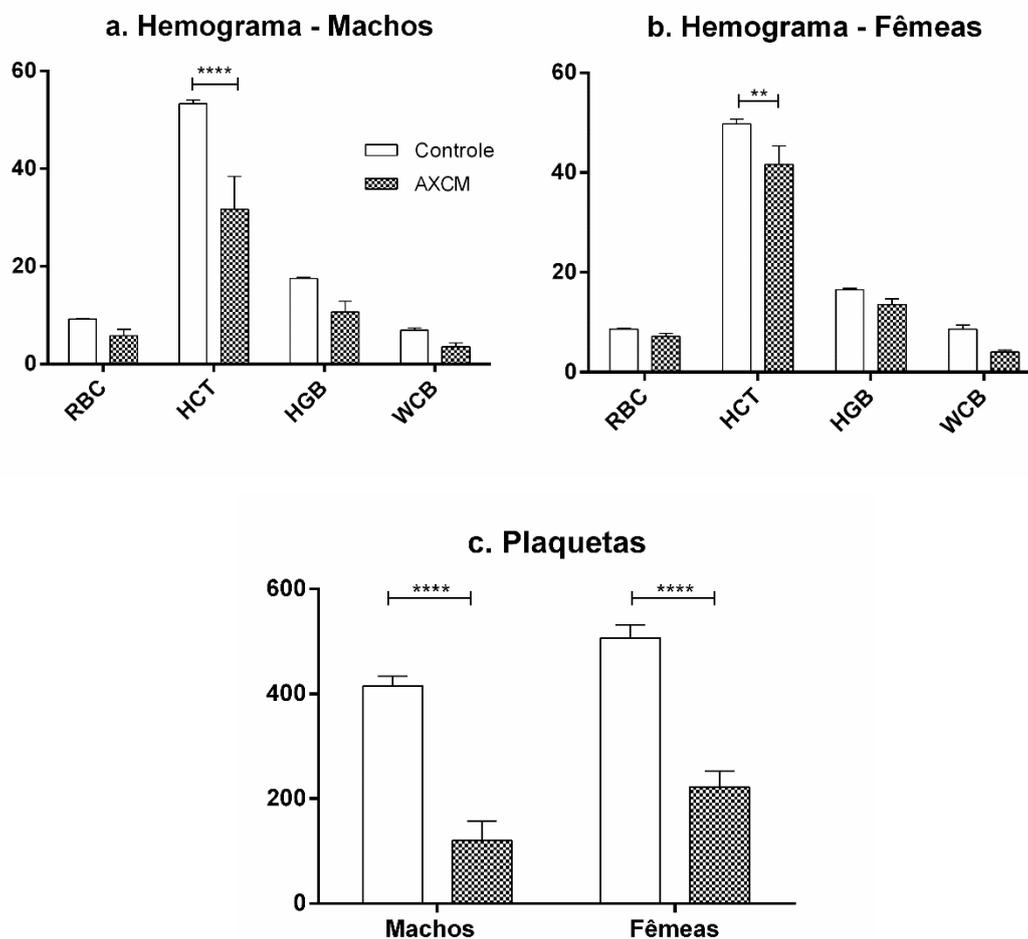
Nota: Animais com 08 semanas de idade.

6.3 HEMATOLOGIA E BIOQUÍMICA

Ao compararmos os resultados do grupo AXCM com o grupo controle observamos que todos os parâmetros hematológicos se apresentaram reduzidos no grupo AXCM com diferença estatística para os valores de hematócrito e plaquetas (Gráfico 22). Com relação aos parâmetros bioquímicos observamos acentuada hiperglicemia e aumento de ALT e AST. Os níveis de glicose sanguínea foram até 3,5 vezes maiores no grupo AXCM, enquanto os níveis de ALT e AST foram até 2,6 e 11,5 vezes maiores, respectivamente. Os valores de creatinina foram duas vezes maiores para machos e três vezes maiores para fêmeas. Entretanto, diferenças

estatisticamente significativas só foram observadas nos níveis de glicose e AST, para ambos os sexos (Gráfico 23). Não houve alteração nos níveis de ureia.

Gráfico 22: Comparação de parâmetros hematológicos entre o grupo controle e o grupo AXCM

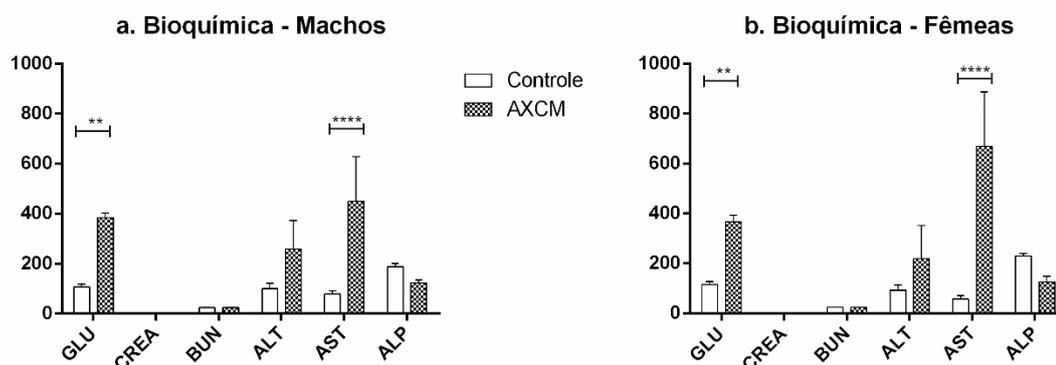


Fonte: Seabra (2019).

Legenda: **a.** Parâmetros hematológicos de machos; **b.** Parâmetros hematológicos de fêmeas; **c.** Total de plaquetas de machos e fêmeas. Resultados expressos com erro padrão (SEM). $p < 0,05$. $n = 6$ animais. Grupo controle: anestesiados com halotano. Protocolo AXCM: Acepromazina (2mg/Kg) + Xilazina (10mg/Kg) + Cetamina (100mg/Kg) + Meloxicam (10mg/Kg).

Nota: Animais com 08 semanas de idade.

Os valores bioquímicos e hematológicos mensurados para machos e fêmeas do grupo controle e do grupo submetido ao protocolo AXCM, encontram-se resumidos nas Tabelas 7 e 8.

Gráfico 23: Comparação de parâmetros bioquímicos entre o grupo controle e o grupo AXCM

Fonte: Seabra (2019).

Legenda: **a.** Parâmetros bioquímicos de machos; **b.** Parâmetros bioquímicos de fêmeas. Resultados expressos com erro padrão (SEM). $p < 0,05$. $n = 6$ animais. Grupo controle: anestesiados com halotano. Protocolo AXCM: Acepromazina (2mg/Kg) + Xilazina (10mg/Kg) + Cetamina (100mg/Kg) + Meloxicam (10mg/Kg).

Nota: Animais com 08 semanas de idade.

Tabela 7 – Valores bioquímicos de machos e fêmeas submetidos ao protocolo AXCM e valores do grupo controle

	MACHOS														Média
	CONTROLE						Média	AXCM						Média	
	CM1	CM2	CM3	CM4	CM5	CM6		M1	M2	M3	M4	M5	M6		
GLU	81,0	143,0	130,0	106,0	110,0	70,0	106,7	365,0	420,0	320,0	395,0	438,0	369,0	384,5	
CREA	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2	0,3	0,2	
BUN	19,0	28,0	24,0	23,0	28,0	27,0	24,8	23,0	27,0	21,0	25,0	24,0	26,0	24,3	
ALT	38,0	52,0	96,0	145,0	180,0	86,0	99,5	85,0	<10	56,0	377,0	518,0	<10	259,0	
AST	52,0	67,0	60,0	92,0	134,0	70,0	79,2	75,0	>1083	53,0	545,0	559,0	1016,0	449,6	
ALKP	148,0	209,0	158,0	215,0	173,0	223,0	187,7	150,0	88,0	161,0	120,0	116,0	107,0	123,7	

	FÊMEAS														Média
	CONTROLE						Média	AXCM						Média	
	CF1	CF2	CF3	CF4	CF5	CF6		F1	F2	F3	F4	F5	F6		
GLU	87	158	91	128	111	122	116,17	368	475	289	391	319	365	367,83	
CREA	<0,1	<0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,10	0,5	0,3	0,4	0,2	0,2	0,2	0,30	
BUN	24	23	26	23	27	26	24,83	24	25	21	25	26	28	24,83	
ALT	92	188	91	62	65	67	94,17	<20	77	145	43	<10	613	219,50	
AST	54	126	36	40	46	46	58,00	>1083	100	974	>1083	1048	552	668,50	
ALKP	237	194	236	214	252	251	230,67	67	191	63	149	109	179	126,33	

Fonte: Seabra (2019).

Tabela 8 – Valores hematológicos de machos e fêmeas do grupo controle e do grupo submetido ao protocolo AXCM

MACHOS														
	CONTROLE							AXCM						
	CM1	CM2	CM3	CM4	CM5	CM6	Média	M1	M2	M3	M4	M5	M6	Média
RBC	9,21	9,23	8,66	9,35	8,98	9,93	9,23	8,77	7,04	6,22	0,05	5,89	7,08	5,84
HCT	54,80	53,70	49,60	52,70	53,00	55,80	53,27	48,40	38,00	33,10	0,30	32,10	38,30	31,70
HGB	17,50	17,50	16,40	17,50	17,40	18,70	17,50	16,00	12,90	11,30	0,10	10,90	12,90	10,68
WCB	8,14	5,71	6,22	8,41	6,05	6,96	6,92	5,07	4,40	3,38	0,54	3,54	4,32	3,54
PLQ	375,00	416,00	357,00	488,00	431,00	424,00	415,17	257,00	120,00	47,00	0,00	131,00	164,00	119,83
FÊMEAS														
	CONTROLE							AXCM						
	CF1	CF2	CF3	CF4	CF5	CF6	Média	F1	F2	F3	F4	F5	F6	Média
RBC	8,98	8,33	8,80	8,18	8,79	8,74	8,64	8,14	5,64	9,30	6,34	5,88	7,80	7,18
HCT	52,00	46,90	51,60	46,50	51,50	49,70	49,70	47,80	31,60	54,60	37,60	32,90	45,20	41,62
HGB	17,50	15,70	16,90	15,60	16,80	16,70	16,53	15,40	10,60	17,50	12,50	11,10	14,50	13,60
WCB	8,54	11,79	5,79	8,82	7,82	9,11	8,65	3,21	4,33	3,59	2,93	5,74	4,43	4,04
PLQ	464,00	437,00	465,00	570,00	523,00	582,00	506,83	217,00	247,00	255,00	85,00	219,00	310,00	222,17

Fonte: Seabra (2019).

7 DISCUSSÃO

7.1 TEMPOS DE ANESTESIA

O período de indução mais extenso, observado em machos para ambos os protocolos, nos leva a crer que tenha relação com a via de administração escolhida e o processo de metabolização em si. Um fármaco administrado pela via IP passa por metabolização hepática antes de atingir a circulação sistêmica (efeito de primeira passagem) o que pode resultar em baixa concentração plasmática e em efeitos mais lentos (HAJIGHAHRAMANI; VESAL, 2007; LONGLEY, 2008; TURNER et al., 2011). Somado a isso temos a possibilidade de que, assim como observado em ratos, as fêmeas de hamsters possam ter deficiência ou ausência das enzimas hepáticas biotransformadoras. Em humanos a biotransformação do meloxicam se dá pela ação de duas enzimas CYPs com diferentes afinidades: CYP2C9 e a CYP3A4, sendo a primeira a mais importante. Em ratos as enzimas CYP2C11 e CYP2C7, membros da família CYP2C, fazem esse papel, entretanto a enzima CYP2C11 parece não estar presente em fêmeas (BUSCH et al., 1998). Assim sendo, em machos, uma maior quantidade dos fármacos passaria por metabolização hepática reduzindo a concentração plasmática e tornando necessárias doses mais elevadas para atingir o mesmo efeito terapêutico. Quando comparamos os machos submetidos aos dois protocolos observamos que o grupo AXCT teve um período de indução mais extenso do que o grupo AXCM (em média 3,4 minutos) o que poderia estar relacionado a uma inibição excessiva de cicloxigenases nas células do SNC promovida pelo meloxicam (YAMAGATA et al., 1993; YANG; CHEN, 2008; AURIEL; REGEV; KORCZYN, 2014). O tramadol apesar de possuir ação central, promove fraca ligação com receptores opióides do tipo μ (DRIESSEN; REIMANN; GIERTZ, 1993; OYAMA et al., 2012; TAKHTFOOLADI et al., 2014a, 2014b; TAYLOR et al., 2016; FLECKNELL, 2018b). Assim, poderíamos concluir que o tramadol teria um efeito sedativo menos potente quando comparado com o meloxicam, o que resultaria em um maior período de indução. Por último, a associação AXCT pode promover uma competição entre a cetamina e o tramadol uma vez que ambos interagem com receptores opióides (WHITE; WAY; TREVOR, 1982; HIROTA et al., 1999; MEYER; FISH, 2008; VALADÃO, 2010; BERRY, 2015), o que poderia determinar a limitação dos efeitos da cetamina.

Observamos também que o período de anestesia cirúrgica foi maior para fêmeas em todos os grupos, bem como foi maior para os animais submetidos ao protocolo AXCM. A possibilidade de fêmeas de hamsters possuírem quantidades de enzimas CYPs reduzidas ou ausentes em relação aos machos, conforme detalhado anteriormente, explicaria o maior tempo de eliminação em fêmeas e, conseqüentemente, um maior período de anestesia cirúrgica. Além da metabolização do meloxicam pelas enzimas CYP2C11 e CYP2C7, a cetamina também sofre metabolização hepática, principalmente pela enzima CYP3A4. Da mesma forma que para o meloxicam, parece existir uma diferença na resposta de ratos à cetamina de acordo com o sexo dos animais, o que pode estar associado a maior habilidade dos machos em produzir o metabólito da oxidação da ciclohexanona, a norcetamina (MEYER; FISH, 2008), que possui um terço da potência da cetamina (WHITE; WAY; TREVOR, 1982; VALADÃO, 2010; BERRY, 2015; FANTONI; CORTOPASSI; BERNARDI, 2017). Vale lembrar que foi demonstrado em outros estudos que o estresse não traumático reduz a função de enzimas, possivelmente devido a redução do fluxo sanguíneo hepático (HALL; CLARKE; TRIM, 2001) e esse fator também deve ser levado em consideração quando do preparo dos animais para o procedimento. Por último, levantamos a hipótese de a constituição corporal interferir no tempo de ação dos fármacos, uma vez que fêmeas normalmente possuem maior quantidade de massa gorda do que machos. Estudos em ratos demonstraram diferenças entre sexos, com machos apresentando uma massa corporal magra maior, o que, associado ao metabolismo mais rápido poderia explicar a necessidade de suplementação anestésica nesses indivíduos (ZAMBRICKI; D'ALECY, 2004).

O fato de os animais submetidos ao protocolo AXCM, com ou sem suporte de oxigênio, permanecerem mais tempo anestesiados pode ser atribuído a ação do meloxicam. Nosso grupo identificou que a administração de 20mg/Kg deste AINE em camundongos levou a apatia e letargia, com redução da atividade geral, o que pode ser indicativo de intoxicação aguda (ANTIORIO et al., 2018). A intoxicação aguda foi registrada em paciente humanos (HUNTER; WOOD; DARGAN, 2011; AURIEL; REGEV; KORCZYN, 2014) e está aparentemente relacionada com a inibição excessiva de cicloxigenases, as quais são expressas também pela maioria das células do SNC (YAMAGATA et al., 1993; YANG; CHEN, 2008; AURIEL; REGEV; KORCZYN, 2014). A administração do meloxicam, portanto, parece potencializar os

efeitos anestésicos e, por estar relatada a intoxicação aguda em humanos, seria interessante estender os estudos para verificar se houve dano hepático através de análises histopatológicas.

Não houve diferença estatística quanto ao período de recuperação anestésica entre machos e fêmeas, ou entre animais do mesmo sexo e submetidos ao mesmo protocolo, recebendo ou não suporte de oxigênio. Exceção foi observada nas fêmeas do protocolo AXCT que se recuperaram, em média, 12 minutos mais rápido do que as submetidas ao mesmo protocolo e que não receberam oxigênio. Ainda, o período de recuperação foi maior para fêmeas do grupo AXCT que não receberam oxigênio quando comparadas com fêmeas submetidas ao protocolo AXCM nas mesmas condições. Esses animais levaram, em média, 21,7 minutos a mais para se recuperarem completamente. Esse fato pode ser explicado em virtude da depressão respiratória promovida e que consiste no principal efeito adverso dos fármacos opioides. A influência exercida no sistema respiratório, como apresentado no início deste trabalho, está diretamente relacionada a ativação de receptores opióides μ localizados nos centros respiratórios do tronco encefálico, aonde são abundantes, podendo levar a hipóxia e diminuição de frequência respiratória (KENDALL et al., 2014; SCHIER et al., 2014; JIRKOF, 2017). Apesar de o tramadol promover menores efeitos adversos do que outros opioides (TAKHTFOOLADI et al., 2014b; TAYLOR et al., 2016) a depressão respiratória foi importante, principalmente para fêmeas, sendo necessário o fornecimento de oxigênio para promover uma recuperação mais rápida. Não foram encontrados dados de literatura que expliquem o fato de as fêmeas apresentarem maior depressão respiratória do que os machos, sendo necessários estudos adicionais. Ainda, a via de inoculação IP promove efeitos residuais os quais podem persistir para além do período anestésico, podendo determinar uma recuperação mais prolongada, porém, mais suave (FLECKNELL, 2016). Por último, a acepromazina pode ter ação sedativa prolongada para além do período anestésico (RANKIN, 2015) o que pode ter contribuído no prolongamento da completa recuperação.

Interessante notar que, ao contrário do que esperávamos, ao fornecermos o suporte de oxigênio os animais tenderam a permanecer mais tempo anestesiados e essa diferença foi muito expressiva nos machos. Quando os animais foram submetidos ao protocolo AXCM com suplementação de oxigênio a diferença entre machos e fêmeas foi reduzida (sem oxigênio: $p < 0,0005^{***}$; com oxigênio: $p < 0,05^*$).

Já, quando submetidos ao protocolo AXCT, a diferença estatística entre sexos desapareceu. Os machos AXCM com suporte de oxigênio permaneceram 12,5 minutos mais tempo anestesiados do que machos que não receberam oxigênio, enquanto machos AXCT permaneceram 19 minutos a mais anestesiados.

No decorrer do período anestésico o monitoramento foi realizado por meio de verificação dos reflexos palpebral, podal (membros anteriores e posteriores) e auricular, bem como dos parâmetros fisiológicos e coordenação motora, em intervalos de dez minutos. Apesar de todos os animais terem perdido os reflexos e endireitamento, podal e palpebral, e apesar de ambos os protocolos se mostrarem seguros, sem nenhuma ocorrência de óbito, o reflexo auricular esteve presente em diversos animais. Entretanto, a resposta observada aos estímulos nociceptivos aplicados a esta área anatômica não foi acompanhada, em nenhum momento, de um aumento de frequência cardíaca e/ou respiratória. A perda de reflexos é mediada, principalmente, por estímulos espinhais e a profundidade anestésica necessária para suprimir essas respostas é maior do que a necessária para a perda de consciência (HEATLEY; HARRIS, 2009; HASKINS, 2015; FLECKNELL, 2016). Assim, ressaltamos a importância da monitoração de vários parâmetros no decorrer da anestesia a fim de garantir que o animal esteja em um plano anestésico adequado ao procedimento que será realizado. Basear-se somente na resposta nociceptiva pode resultar na manutenção de animais em planos mais profundos do que o necessário (HASKINS, 2015; FLECKNELL, 2016), sendo ideal avaliar as respostas autonômicas concomitantemente (NAKAMURA et al., 2017). Sabemos também que o reflexo de retirada dos membros é comumente utilizado para determinar o nível de anestesia em pequenos animais de laboratório, assim como o reflexo palpebral varia entre espécies e apesar de, na maioria delas, ser perdido no início da anestesia, em coelhos pode se tornar ausente somente quando atingido um plano anestésico muito profundo (HEAVNER; COOPER, 2008; SMITH; DANNEMAN, 2008; FLECKNELL, 2009, 2016). Não encontramos dados em literatura referindo-se ao reflexo auricular em hamsters, porém o mesmo parece ser observado em coelhos e cobaias (FLECKNELL, 2009, 2016). Em alguns casos um reflexo poderá estar presente, mas o estímulo, não promovendo respostas autonômicas, indicaria estar em plano anestésico adequado para o início do procedimento (NAKAMURA et al., 2017). Assim sendo, acreditamos que a presença do reflexo auricular, nessa

espécie, não seja um fator que impeça o início de um procedimento cirúrgico invasivo.

Em todos os grupos os olhos dos animais permaneceram abertos devido ao efeito dissociativo da cetamina (WHITE; WAY; TREVOR, 1982; ALONSO et al., 2007; HAJIGHAHRAMANI; VESAL, 2007; MEYER; FISH, 2008; VALADÃO, 2010; FLECKNELL, 2016), sendo fundamental sua lubrificação para prevenir o ressecamento da córnea (HEATLEY; HARRIS, 2009; FLECKNELL, 2016) e a ocorrência de catarata aguda decorrente da associação com xilazina (CALDERONE; GRIMES; SHALEV, 1986).

De modo geral, observamos que o protocolo AXCT determinou um menor tempo de anestesia e um maior tempo de recuperação para ambos os sexos, com ou sem o fornecimento de oxigênio. Desta forma, acreditamos que, apesar da ausência de óbitos, essa associação anestésica deva ser refinada. Já o protocolo anestésico AXCM nos pareceu mais adequado quando da realização de procedimentos invasivos nessa espécie animal, para ambos os sexos, promovendo uma anestesia de maior duração e menor tempo de recuperação, mesmo quando não houve suporte de oxigênio.

7.2 PARÂMETROS FISIOLÓGICOS

Avaliando-se as temperaturas registradas para os diferentes grupos não foi detectada diferença estatística entre machos e fêmeas de um mesmo grupo ou entre animais do mesmo sexo submetidos a um mesmo protocolo, com ou sem suplementação de oxigênio. As únicas diferenças estatísticas observadas consistiram em elevação da temperatura das fêmeas em 1°C ao final do período anestésico para o protocolo AXCM e entre machos e fêmeas do protocolo AXCT sem oxigênio. Esta última parece ter sido pontual e talvez fosse inexistente com uma amostragem maior. Apesar de não ter sido observada diferença estatística de temperatura ao longo do período anestésico observamos que a temperatura das fêmeas se manteve maior ou igual do que a dos machos para todos os grupos. Ainda, pudemos notar uma diminuição de 2°C a 3°C na temperatura das fêmeas e de 3°C a 4°C em machos, tomando-se como referência o valor basal de 37°C (HEATLEY; HARRIS, 2009; FLECKNELL, 2016; MAYER; MANS, 2018). Ainda,

dentro de cada grupo, houve mínima variação de valores ao longo do período anestésico (menor do que 0,8°C).

Sabemos que a hipotermia é uma causa frequente de óbito decorrente de anestesia e em pequenos roedores merece especial atenção uma vez que esses possuem grande superfície corpórea em relação a massa corporal, levando a maior perda de calor (HEAVNER; COOPER, 2008; SMITH; DANNEMAN, 2008; FLECKNELL, 2009, 2016; HEATLEY; HARRIS, 2009; FLECKNELL; THOMAS, 2015). A hipotermia é agravada por uma série de fatores inerentes a cirurgia como a remoção dos pêlos, assepsia da pele, administração de fluídos, menor temperatura ambiente e fornecimento de oxigênio (HASKINS, 2015). A hipotermia consiste em um importante efeito adverso da acepromazina (HALL; CLARKE; TRIM, 2001; CORTOPASSI; FANTONI, 2010; RANKIN, 2015; SPINOSA; GÓRNIK, 2017) o qual promove a queda de temperatura corporal por meio de efeitos centrais (bloqueio de receptores dopaminérgicos) e periféricos (decorrentes de vasodilatação periférica). Da mesma forma, a cetamina promove hipotermia dose-dependente que pode ser decorrente da diminuição na produção de calor, efeito observado mesmo após a recuperação anestésica (WHITE; WAY; TREVOR, 1982; PICOLLO et al., 2012).

Assim, a queda na temperatura parece ter sido controlada por meio do fornecimento de uma fonte de calor (colchão térmico mantido a temperatura entre 35°C e 37°C), tendo sido mínima e permanecendo estável de modo a garantir a segurança e o bem-estar dos animais, bem como, minimizar interferências em protocolos experimentais que poderiam ser decorrentes de oscilações maiores. Ainda, uma leve diminuição na temperatura corporal pode ter um efeito protetor reduzindo a taxa de metabolismo basal e o consumo de oxigênio e, conseqüentemente, o risco de hipóxia e isquemia (SHEFFIELD; SESSLER; HUNT, 1994; SCOTT; BUCKLAND, 2006).

Com relação a saturação de oxigênio, o protocolo AXCM não demonstrou ter diferença estatística entre os gêneros de um mesmo grupo (com ou sem oxigênio). Diferença estatística foi notada no decorrer do período anestésico, quando observamos leve queda de saturação nas fêmeas que não receberam oxigênio. Da mesma maneira, houve um aumento substancial de saturação após seu fornecimento, quando as taxas de oxigenação tecidual passaram de 85% para 96%, para ambos os sexos. Machos apresentaram valores iniciais de saturação menores

do que o de fêmeas, tendo permanecido mais estáveis ao longo do tempo, sem diferença estatística com relação ao valor inicial.

No protocolo AXCT a falta de suplementação foi crítica para fêmeas durante todo o período anestésico apresentando valores decrescentes que foram de 71,3% (início do período) a 67% (final do período). Houve diferença estatística entre machos e fêmeas que não receberam oxigenação e entre fêmeas de grupos diferentes (com ou sem oxigênio). Neste último caso observamos uma diferença média de 25% de saturação durante todo o período anestésico. A saturação média dos machos foi de 84,7%, valor similar ao do protocolo AXCM nas mesmas condições e, assim como os machos daquele grupo, se manteve estável ao longo do período anestésico. Da mesma forma que o protocolo AXCM, após o fornecimento de oxigênio as taxas de saturação aumentaram substancialmente para ambos os sexos e a diferença estatística entre machos e fêmeas desapareceu. Os valores médios iniciais e finais registrados foram de 84,7% e 91%, para machos e de 68% para 94% para fêmeas.

Comparando-se animais submetidos a diferentes protocolos (AXCM ou AXCT), porém sobre as mesmas condições (com ou sem oxigênio), somente foi observada relevância estatística entre fêmeas sem oxigenação suplementar, onde os valores para as fêmeas do grupo AXCT foram expressivamente menores durante todo o período. A queda nos níveis de oxigenação foi maior em fêmeas, sendo muito mais expressivas no protocolo AXCT, chegando a 67%.

Apesar de o protocolo AXCM ter promovido uma queda muito mais branda nos níveis de saturação, permanecendo com valores acima de 81%, sabemos que uma queda de mais de 5% indica o início de hipóxia, que quando alcança 10% deve ser prontamente corrigida (HEAVNER; COOPER, 2008; FLECKNELL, 2009, 2016; DAHAN; AARTS; SMITH, 2010). Importante ressaltar que em nenhum dos grupos, foram observadas alterações clínicas indicativas de baixa oxigenação tecidual, como mucosas cianóticas, mesmo com os menores valores registrados. Essa alteração, quando observada indica o início de uma hipóxia severa e só ocorre quando os níveis de saturação de oxigênio encontram-se abaixo de 50%, com risco de morte (FLECKNELL, 2009, 2016; HASKINS, 2015). Assim, tanto a coloração das mucosas quanto o monitoramento da saturação com um oxímetro de pulso consistem em importantes parâmetros a serem acompanhados durante a anestesia e a ausência de mucosas cianóticas não são um indicativo de adequada oxigenação tecidual

(HEAVNER; COOPER, 2008). A vasoconstrição promovida pela cetamina e pela xilazina pode levar a queda de saturação, da mesma forma que pode decorrer de uma depressão respiratória ou de uma obstrução de vias aéreas (CURL; PETERS, 1983; CURL, 1988; HEAVNER; COOPER, 2008; RANKIN, 2015; FLECKNELL, 2016). Esses mesmos fármacos também promovem uma leve diminuição de frequência respiratória (WHITE; WAY; TREVOR, 1982; GREENE; THURMON, 1988; BAGATINI et al., 2002; HAJIGHAHRAMANI; VESAL, 2007; RANKIN, 2015) que justificaria a queda de saturação observada em ambos protocolos. A diminuição de frequência respiratória foi observada durante todo período anestésico para ambos os protocolos, entretanto, a diferença estatística entre os sexos só foi observada aos 40 minutos do protocolo AXCM. Ao fornecermos oxigenação, a FR mostrou diferença estatística quando comparada com o início do procedimento, quando ainda não havia sido fornecido oxigênio. A medida que houve aumento de saturação observamos diminuição de FR, como esperado.

Quando incluímos um opioide na associação anestésica, a queda nas taxas de saturação é muito mais expressiva. A queda da oxigenação tecidual decorre da depressão respiratória relacionada ao uso desse grupo de fármacos, a qual está diretamente relacionada a ativação de receptores opióides do tipo μ , localizados nos centros respiratórios do tronco encefálico (SCHIER et al., 2014; JIRKOF, 2017). Apesar de o tramadol ser descrito como o que promove os menores efeitos colaterais da classe (TAKHTFOOLADI et al., 2014b; TAYLOR et al., 2016), sua ação sobre o sistema respiratório foi importante e novas doses e associações precisam ser melhor estudadas de modo a preservar o bem-estar do animal, pois esse efeito pode levar a complicações na anestesia e durante o período de recuperação anestésica (JIRKOF, 2017).

Existem diversos estudos que caracterizam a diferença de ação de opioides em machos e fêmeas, entretanto, esses estudos focam suas avaliações em análises nociceptivas e não na depressão respiratória promovida por esse grupo de fármacos. Foi descoberto que opioides induzem depressão respiratória principalmente através de receptores μ , na dependência das características farmacológicas do fármaco escolhido e da dose administrada (DAHAN; AARTS; SMITH, 2010). Sabe-se também que os opioides promovem analgesia e depressão respiratória a partir de uma mesma origem e que a ação analgésica é mais potente em machos do que em fêmeas (KEST; SARTON; DAHAN, 2000; CRAFT; BERNAL,

2001; BARRETT; SMITH; PICKER, 2002; DAHAN; AARTS; SMITH, 2010), o que poderia determinar a necessidade de doses maiores para esse grupo, aumentando efeitos adversos ao sistema respiratório. Ainda, houve diferença de concentração entre machos e fêmeas após administração IP, com menor concentração em fêmeas após quatro horas da administração (EVANGELISTA VAZ et al., 2018), sugerindo uma metabolização mais rápida nesse gênero. Em estudo com humanos a depressão respiratória pareceu estar associada com a idade e não com o gênero ou via de administração (CEPEDA et al., 2003).

Temos, portanto, que os efeitos analgésicos dos opioides são mais potentes em machos e que esses efeitos seriam desencadeados pelo mesmo mecanismo que determina a depressão respiratória. Entretanto, na mesma dose, a depressão respiratória foi mais pronunciada em fêmeas, determinando a necessidade de estudos adicionais focados nesse sistema. Podemos inferir que animais com vias aéreas comprometidas devem ser considerados como grupo de risco.

Os efeitos no sistema cardiovascular foram menores do que no sistema respiratório. Houve queda de frequência cardíaca ao longo do período anestésico para todos os grupos, sendo mais evidente para os animais que receberam oxigênio. A bradicardia observada parece ser efeito da associação de xilazina e cetamina (CURL; PETERS, 1983; CURL, 1988; LICHTENBERGER; KO, 2007; GAERTNER et al., 2008; HEAVNER; COOPER, 2008; RANKIN, 2015; FLECKNELL, 2016; FANTONI; CORTOPASSI; BERNARDI, 2017; SPINOSA; GÓRNIK, 2017) uma vez que, em doses clínicas, a acepromazina afeta minimamente a FC e FR (HALL; CLARKE; TRIM, 2001). A arritmia cardíaca, que pode decorrer do uso da xilazina, não foi observada (GREEN et al., 1981; CURL; PETERS, 1983; CURL, 1988; GREENE; THURMON, 1988).

7.3 HEMATOLOGIA E BIOQUÍMICA

A hiperglicemia parece ser resultante da associação anestésica utilizada, especialmente devido ao uso de agonistas de receptores α_2 -adrenérgicos.

Sabe-se que a homeostase da glicose plasmática é regulada por diversos hormônios como o glucagon, catecolaminas, hormônio adrenocorticotrópico (ACTH), hormônio do crescimento (GH) e, em certas condições associadas ao estresse, o cortisol. A xilazina parece promover hiperglicemia em decorrência da inibição de

secreção de insulina plasmática (efeito mediado por receptores α_2 de células beta pancreáticas) e aumento da liberação de glucagon (GREENE; THURMON, 1988; SAHA et al., 2005; GAERTNER et al., 2008; HEAVNER; COOPER, 2008; MEYER; FISH, 2008; NAKAMURA et al., 2017). Com o tempo, os níveis de insulina aumentam produzindo um aumento de glicogenólise e lipólise, resultando em hiperglicemia que pode durar 4 a 6 horas (FLECKNELL, 2016). Essa condição pode ser exacerbada em decorrência do estresse promovido por condições de excitação ou medo resultantes da contenção física, por exemplo (DECKARDT et al., 2007; GAD; HESS, 2007; FERNÁNDEZ et al., 2010; WASHINGTON; VAN HOOSIER, 2012). Uma vez que os animais foram manualmente contidos para a administração intraperitoneal da associação de anestésicos do protocolo AXCM, condição a que o grupo controle não foi submetido, essa manipulação adicional pode ter contribuído para esse efeito. A cetamina e a acepromazina também parecem promover aumento de glicose no sangue, porém de forma mais discreta (WHITE; WAY; TREVOR, 1982; MEYER; FISH, 2008). Assim, o leve aumento de glicose sanguínea promovido pela cetamina e acepromazina parece ter sido somado aos efeitos hiperglicemiantes da xilazina, bem como o estresse da contenção física pode ter contribuído para exacerbar essa condição. A cardiocentese, associada a altos índices de glicose no sangue de camundongos (QUIMBY; LUONG, 2007), parece não ter promovido alteração nesse parâmetro uma vez que tanto machos quanto fêmeas do grupo controle mantiveram seus índices normais.

Apesar da diferença estatística ter sido observada somente para a enzima AST que chegou a estar até 11,5 vezes aumentada em fêmeas do grupo AXCM e 5,6 vezes aumentada em machos, a enzima ALT também apresentou aumento com relação ao grupo controle em até 2,6 vezes, bem como a ALP mostrou-se reduzida em até 1,8 vezes. O aumento nas concentrações de enzimas hepáticas pode ser decorrente do uso de cetamina e persistir por até quatro dias (DAVY et al., 1987; FANTONI; CORTOPASSI; BERNARDI, 2017). A cetamina é metabolizada pelo fígado e quando combinada com proteases pode promover a inflamação desse órgão, resultando em um aumento das enzimas hepáticas AST e ALT. Da mesma forma, a injúria promovida ao fígado pode levar a depleção da enzima ALP (LUGO-ROMAN et al., 2010). Ainda, pelo fato dos AINEs passarem por biotransformação hepática dependente de enzimas CYPs (BUSCH et al., 1998; CHESNE; et al., 1998; JOHNSTON; NARBE, 2012; BURUKOGLU et al., 2016) e essas enzimas podem

apresentar variações em função de diversos fatores como a espécie e o sexo (BUSCH et al., 1998; CHESNE; et al., 1998; MEYER; FISH, 2008; JOHNSTON; NARBE, 2012; BURUKOGLU et al., 2016) levantamos a possibilidade de a elevação de AST ser o dobro em fêmeas devido a uma metabolização mais lenta neste gênero. Como dito anteriormente, a CYP2C11 é ausente em fêmeas de ratos (BUSCH et al., 1998) levando a uma metabolização mais lenta e maior tempo de eliminação o que poderia desencadear maiores efeitos de toxicidade. Essa condição levanta a hipótese de que em hamsters o mesmo possa ocorrer, o que, somado a inflamação promovida pela cetamina, poderia explicar essa condição, ficando, sua confirmação, dependente de novos estudos. Ainda, a contenção física leva ao aumento de diversas enzimas musculares como a AST (MELILLO, 2007). Pelo fato de essas enzimas serem encontradas em grande quantidade no músculo cardíaco, esperava-se que a cardiocentese promovesse níveis artificialmente elevados das mesmas (GAD; HESS, 2007; WASHINGTON; VAN HOOSIER, 2012; CLIFFORD; SIMMONS, 2018). Por último, o exame sanitário da colônia de origem dos hamsters foi positivo para *Helicobacter spp* pelo exame de PCR (*Polimerase Chain Reaction*), indicativo que o animal teve contato com a bactéria. Uma vez que a presença do *Helicobacter cholecystus* foi associada a lesões no fígado e ductos biliares, podendo alterar níveis enzimáticos e de ácidos biliares (CLIFFORD; SIMMONS, 2018) esse também poderia ser um fator que, somado aos demais, explicaria o aumento dessas enzimas. Entretanto, o grupo controle, anestesiado com anestésico inalatório sevoflurano, apresentou valores dentro do intervalo de referência e, portanto, a via de coleta e a condição sanitária da colônia não parecem ter influenciado nos valores das enzimas hepáticas. Os níveis de ureia e creatinina do grupo AXCM não apresentaram diferença estatística com relação ao grupo controle ao mesmo tempo que se mantiveram dentro dos valores de referência ou muito próximos a esses. Adicionalmente, encontramos registros de que os níveis de ureia se elevem após o uso de cetamina, com o passar do tempo, retornando aos valores basais em 24 horas, o que indicaria um efeito de curto prazo na função renal (BOUGHERARA; BOUAZIZ, 2014). Esse efeito não foi observado no presente estudo, talvez devido ao fato da coleta das amostras ter sido realizada aos 30 minutos após administração. Nesse ponto torna-se importante ressaltar que tanto a creatinina quanto a ureia permanecem dentro do intervalo de referência na maioria dos animais

até que 75% da função renal esteja comprometida (QUIMBY; LUONG, 2007; WASHINGTON; VAN HOOSIER, 2012).

Acreditamos ser necessário o acompanhamento por um período mais longo, por meio de amostras seriadas, bem como a realização de análises histológicas desses órgãos a fim de observar qual o intervalo de tempo necessário para que as enzimas hepáticas retornem aos níveis basais; se com o decorrer do tempo há alteração de ureia e creatinina; e se uma única administração caracterizaria danos hepáticos permanentes ou algum grau de comprometimento de função renal.

Com relação ao hemograma todos os parâmetros apresentaram-se reduzidos no grupo AXCM, sendo estatisticamente significativa a redução do hematócrito e da contagem de plaquetas.

De acordo com dados encontrados em literatura a cetamina e a acepromazina parecem diminuir o hematócrito e a concentração de hemoglobina, bem como a contagem de eritrócitos e leucócitos, e a função plaquetária (LOOMIS; HENRICKSON; ANDERSON, 1980; MEYER; FISH, 2008; REAGAN; POITOUT-BELISSENT; ROVIRA, 2010; RANKIN, 2015). A cetamina promove um efeito reverso na resposta excitatória associada a contenção física e uma redistribuição de células da circulação sanguínea para o baço e sítios extra vasculares o que explicaria a redução na contagem de eritrócitos e leucócitos (WALL; WORTHMAN; ELSE, 1985; BENNETT et al., 1992; LUGO-ROMAN et al., 2010). A leucopenia pode ser decorrente do uso de altas doses de cetamina como consequência da depressão cardiovascular (WALL; WORTHMAN; ELSE, 1985), ambas observadas no presente estudo (Gráfico 30). Também poderia ser resultante do horário de coleta uma vez que em hamsters o pico de leucócitos se manifesta no período noturno quando os animais estão mais ativos (EVANS, 2009; SMITH; ZIMMERMAN; MOORE, 2010), entretanto não foram observadas alterações no grupo controle e essa opção foi descartada. Por último, a leucopenia pode ter como uma das causas a administração de substâncias diuréticas. Nesse aspecto, levando-se em conta que os agonistas de receptores α_2 -adrenérgicos são fármacos que aumentam a diurese através da inibição da liberação de hormônio ADH ou de forma secundária à hiperglicemia (GREENE; THURMON, 1988; HALL; CLARKE; TRIM, 2001; HAJIGHAHRAMANI; VESAL, 2007; MEYER; FISH, 2008) esse pode ser um fator adicional que desencadeou o resultado observado. Dados de literatura apontavam para a possibilidade desses efeitos serem decorrentes da coleta de sangue pela via

cardíaca. Diversos autores descrevem que a coleta de amostras de locais mais centrais levam a uma contagem diminuída de células brancas, e menor concentração de hemoglobina e hematócrito (NEMZEK et al., 2001; SCHNELL et al., 2002; ABATAN; WELCH; NEMZEK, 2008; PILNY, 2008; HOGGATT et al., 2016). Entretanto, o grupo controle também foi submetido a cardiocentese e os valores obtidos permaneceram dentro do intervalo de referência.

Torna-se importante avaliar a trombocitopenia sob o ponto de vista clínico, uma vez que essa condição pode determinar um aumento no risco de sangramento durante procedimentos cirúrgicos. Sua etiologia inclui a infusão de grandes volumes de fluídos durante a cirurgia, processos infecciosos, coagulação vascular disseminada, secreção de neuraminidase por algumas bactérias, entre outras. Entretanto, nenhuma dessas condições se encaixa ao nosso estudo uma vez que os animais se encontravam clinicamente sadios e não foi realizado procedimento invasivo ou reposição de líquidos. Uma porcentagem mínima de pessoas tem anticorpos que reagem com o EDTA ou promovem satelitismo ao redor de leucócitos levando a uma falsa diminuição na contagem de plaquetas, quadro denominado pseudotrombocitopenia (NAGREBETSKY et al., 2018). Essas causas também foram descartadas uma vez que a diminuição plaquetária foi identificada em todos os animais do grupo AXCM e em nenhum animal do grupo controle. A trombocitopenia também pode ser induzida pelo uso de medicamentos, sendo mais comumente observada quando utilizados agentes heparinizados e antibióticos (pós-operatório) ou ampicilina, ibuprofeno, naproxen, raniditina, vancomicina (pré-operatório) (NAGREBETSKY et al., 2018). Não encontramos dados em literatura que indicassem que o uso de qualquer dos fármacos utilizados no protocolo AXCM leve a esse quadro. Em um único estudo a administração isolada de cetamina promoveu elevação nos valores plaquetários e, quando associada a medetomidina, sua diminuição (LUGO-ROMAN et al., 2010). Uma outra hipótese seria o desenvolvimento de uma lesão hepática aguda. O fígado sintetiza uma série de proteínas envolvidas na homeostase da coagulação e possui uma grande capacidade de reserva, sendo necessário um efeito hepatotóxico significativo para promover alguma alteração. Após uma lesão hepática severa, a síntese de proteínas da coagulação torna-se reduzida, assim como o *clearance* de fatores de coagulação ativados e produtos de degradação da fibrina, refletindo-se na redução do número de plaquetas (EVANS, 2009). A trombocitopenia pode ter sido resultante, ainda, de

problemas na coleta das amostras de sangue com subsequente ativação plaquetária (RUSSELL, 2010). Uma vez que as amostras do grupo AXCM apresentaram maior formação de coágulos, e os agregados plaquetários não são contabilizados, essa possibilidade também deve ser levada em consideração na interpretação dos resultados. Assim, devido a drástica redução no número de plaquetas existem indícios de que a associação anestésica ou algum dos fármacos de forma isolada, promova esse efeito, decorrente ou não de dano hepático agudo. Novos estudos precisam ser conduzidos para esclarecer essa questão.

8 CONCLUSÕES

Ambas associações promoveram anestesia cirúrgica e se mostraram seguras para hamsters, sem ocorrência de óbitos. Entretanto, o protocolo AXCM promoveu uma anestesia de maior duração e menor período de indução e recuperação para ambos os sexos, parecendo ser mais adequada para essa espécie animal do que o protocolo AXCT. Nos dois protocolos os machos levaram mais tempo para entrar em plano de anestesia cirúrgica e tiveram menor período de anestesia cirúrgica, bem como maior variação individual, assim, para esse gênero, podem ser necessárias doses maiores para se atingir o mesmo efeito terapêutico observado em fêmeas, sendo interessante, inclusive verificar a ocorrência de dano hepático através de análises histopatológicas.

Também em ambos os protocolos observamos que os parâmetros fisiológicos se mantiveram mais altos para as fêmeas durante todo o período anestésico.

A queda de temperatura, crítica em pequenos roedores, foi controlada por meio de colchão térmico, tendo sido mínima e permanecendo estável de modo a garantir a segurança e o bem-estar dos animais, bem como, minimizar interferências em protocolos experimentais. Dessa forma, torna-se importante disponibilizar uma fonte de calor tomando o cuidado com o superaquecimento e queimaduras.

Um dos parâmetros mais críticos monitorados foi o nível de oxigenação tecidual. Ambas associações promoveram diminuição de saturação, a qual foi muito expressiva nas fêmeas do grupo AXCT. Apesar de o tramadol ser descrito como o que promove os menores efeitos colaterais da classe sua ação sobre o sistema respiratório foi importante e essa queda parece estar associada a depressão respiratória causada por essa classe de fármacos. O fato de as fêmeas terem

mostrado maiores efeitos adversos determina a necessidade de novos estudos a fim de esclarecer suas possíveis causas. Sabendo-se que a queda de saturação de oxigênio tecidual promove o aparecimento de mucosas cianóticas somente após o início de uma hipóxia severa com risco de morte (abaixo de 50%), momento em que se torna crítico o restabelecimento do animal, e considerando que essa queda pode ser agravada com a hipotermia ou a vasoconstrição promovida pela cetamina e pela xilazina, o fornecimento de uma fonte de calor, juntamente com um suporte de oxigênio durante todo o período anestésico até a recuperação total do animal tornam-se fundamentais para garantir o bem-estar dos animais e sua pronta recuperação. Ainda, a cetamina e xilazina podem aumentar a produção de secreções salivares e brônquicas aumentando o risco de obstruções de vias aéreas, tornando a adequada oxigenação ainda mais importante. De fato, a queda de saturação observada foi prontamente corrigida com a utilização de máscara de oxigênio.

Ainda, uma vez que o protocolo AXCT promoveu uma anestesia de mais curta duração e maior período de recuperação, bem como acentuada queda de oxigenação em fêmeas, novas doses e associações precisam ser estudadas de modo a refinar o protocolo anestésico e preservar o bem-estar do animal, pois esse último efeito pode levar a complicações na anestesia e durante o período de recuperação anestésica.

O monitoramento dos parâmetros fisiológicos por meio de equipamento adequado para a espécie mostra-se também como importante auxiliar na manutenção do bem-estar animal, permitindo uma pronta intervenção caso necessário.

Pelo fato de os olhos dos animais permanecem abertos durante todo o período anestésico torna-se também de suma importância a lubrificação dos olhos para prevenir o ressecamento da córnea e a ocorrência de catarata aguda.

A presença do reflexo auricular não parece ser um fator impeditivo ao início do procedimento cirúrgico uma vez que o estímulo nociceptivo não desencadeou alterações nas respostas autonômicas. Alterações essas observadas quando do retorno do reflexo podal. Entretanto, novos estudos devem ser desenvolvidos para esclarecer melhor essa questão.

Importante que os efeitos nos parâmetros bioquímicos e hematológicos sejam levados em consideração quando da escolha dos protocolos anestésicos. No caso

pudemos observar hiperglicemia e aumento de AST, bem como redução de hematócrito e plaquetas. A hiperglicemia promovida pela cetamina e xilazina, mas principalmente pelo uso de agonistas de receptores α_2 -adrenérgicos pode ser prevenida ou reduzida a partir de um período de jejum curto de aproximadamente 4 horas e não mais do que isso uma vez que os pequenos roedores possuem um metabolismo acelerado, estando muito suscetíveis a hipoglicemia. Por último, torna-se importante avaliar a trombocitopenia sob o ponto de vista clínico, uma vez que essa condição pode determinar um aumento no risco de sangramento durante procedimentos cirúrgicos.

REFERÊNCIAS

- ABATAN, O. I.; WELCH, K. B.; NEMZEK, J. A. Evaluation of saphenous venipuncture and modified tail-clip blood collection in mice. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**: JAALAS, v. 47, n. 3, p. 8–15, 2008.
- ALONSO, D. et al. Anestesia de hamsters (*Mesocricetus auratus*) com tiletamina-zolazepam em associação ou não com a levomepromazina. **Ceres**, v. 54, n. 311, p. 07–13, 2007.
- ANTIÓRIO, A. T. F. B. et al. Assessment of general activity on open-field test of mice postvasectomy using tramadol and meloxicam for pain relief. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v. 57, p. 588–589, 2018.
- ARAÚJO, L. F. et al. Eventos cardiovasculares: um efeito de classe dos inibidores de cox - 2. *arquivos brasileiros de cardiologia*, v. 85, n. 3, p. 222–229, 2005.
- AURIEL, E.; REGEV, K.; KORCZYN, A. D. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs exposure and the central nervous system. In: BILLER, J.; FERRO, J. M. (Ed.). **Handbook of clinical neurology**. [S.l.]: Elsevier B.V., 2014. p. 577–584.
- BAGATINI, A. et al. Dexmedetomidina: Farmacologia e Uso Clínico. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 52, n. 5, p. 606–617, 2002.
- BAGIS, H.; ODAMAN MERCAN, H.; DINNYES, A. Exposure to warmer postoperative temperatures reduces hypothermia caused by anaesthesia and significantly increases the implantation rate of transferred embryos in the mouse. **Laboratory Animals**, v. 38, n. 1, p. 50–54, 2004.
- BARKER, C. F.; BILLINGHAM, R. E. The lymphatic status of hamster cheek pouch tissue in relation to its properties as a graft and as a graft site. **Journal of Experimental Medicine**, v. 133, n. 3, p. 620–639, 1970.
- BARRETT, A. C.; SMITH, E. S.; PICKER, M. J. Sex-related differences in mechanical nociception and antinociception produced by μ - and κ -opioid receptor agonists in rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 452, n. 2, p. 163–173, 2002.
- BATLOUNI, M. Anti-inflamatórios não esteroides: efeitos cardiovasculares, cerebrovasculares e renais. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 94, n. 4, p. 556–563, 2010.
- BENNETT, J. S. et al. Effects of ketamine hydrochloride on serum biochemical and hematologic variables in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). **Veterinary Clinical Pathology**, v. 21, n. 1, p. 15–18, 1992.

BERRY, S. H. Injectable anesthetics. In: GRIMM, K. A. et al. (Ed.). **Veterinary Anesthesia and Analgesia**. 5th. ed. [S.l.]: Wiley-Blackwell, 2015. p. 277–296.

BISHOP, R. W. Structure of the hamster low density lipoprotein receptor gene. **Journal of Lipid Research**, v. 33, n. 4, p. 549–557, 1992.

BOLAND, J. W. et al. Effects of opioids on immunologic parameters that are relevant to anti-tumour immune potential in patients with cancer: a systematic literature review. **British Journal of Cancer**, v. 111, n. 5, p. 866–873, 2014.

BORZONE, G. et al. Rat and hamster species differences in susceptibility to elastase-induced pulmonary emphysema relate to differences in elastase inhibitory capacity. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 293, n. 3, p. R1342–R1349, 2007.

BOUGHERARA, H.; BOUAZIZ, O. Effects of the anaesthetic / tranquillizer treatments (Ketamine , Ketamine + Acepromazine , Zoletil) on selected plasma biochemical parameters in laboratory rats. **Central European Journal of Experimental Biology**, v. 3, n. 2, p. 1–5, 2014.

BOURQUE, S. L. et al. Comparison of buprenorphine and meloxicam for postsurgical analgesia in rats: effects on body weight, locomotor activity, and hemodynamic parameters. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v. 49, n. 5, p. 617–622, 2010.

BUITRAGO, S. et al. Safety and efficacy of various combinations of injectable anesthetics in BALB/c mice. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science : JAALAS**, v. 47, n. 1, p. 11–17, 2008.

BURUKOGLU, D. et al. Effects of nonsteroidal anti-inflammatory meloxicam on stomach, kidney, and liver of rats. **Toxicology and Industrial Health**, v. 32, n. 6, p. 980–986, 2016.

BUSCH, U. et al. Pharmacokinetics of meloxicam in animals and the relevance to humans. **The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 26, n. 6, p. 576–584, 1998.

CALDERONE, L.; GRIMES, P.; SHALEV, M. acute reversible cataract induced anesthesia by xylazine and by ketamine-xylazine anesthesia in rats and mice. **Experimental Eye Research**, v. 42, n. 4, p. 331–337, 1986.

CEPEDA, M. S. et al. Side effects of opioids during short-term administration: effect of age, gender, and race. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, v. 74, n. 2, p. 102–112, 2003.

CHEN, P. H. et al. Subcutaneous meloxicam suspension pharmacokinetics in mice and dose considerations for postoperative analgesia. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 39, n. 4, p. 356–362, 2016.

CHESNE, C. et al. Metabolism of meloxicam in human liver involves cytochromes P4502C9 and 3A4. **Xenobiotica**, v. 28, n. 1, p. 1–13, 1998.

CINCOTTA, A. H.; MEIER, A. H. Circadian rhythms of lipogenic and hypoglycaemic responses to insulin in the golden hamster (*Mesocricetus auratus*). **Journal of Endocrinology**, v. 103, n. 2, p. 141–146, 1984.

CLIFFORD, C. B.; SIMMONS, J. H. The laboratory hamster. In: KURTZ, D. M.; TRAVLOS, G. S. (Ed.). **The clinical chemistry of laboratory animals**. 3rd. ed. [S.I.]: CRC Press, 2018. p. 289–304.

CORTOPASSI, S. R. G.; FANTONI, D. T. Medicação pré-anestésica. In: FANTONI, D. T.; CORTOPASSI, S. R. G. (Ed.). **Anestesia em cães e gatos**. 2nd. ed. [S.I.]: Roca, 2010. p. 217–227.

COULTER, C. A. et al. Reported analgesic administration to rabbits undergoing experimental surgical procedures. **BMC Veterinary Research**, v. 7, n. 1, p. 12, 2011.

CRAFT, R. M.; BERNAL, S. A. Sex differences in opioid antinociception: κ and “mixed action” agonists. **Drug and Alcohol Dependence**, v. 63, n. 3, p. 215–228, 2001.

CURL, J. L. Ketamine-xylazine anaesthesia in the Djungarian hamster (*Phodopus sungorus*). **Laboratory Animals**, v. 22, n. 4, p. 309–312, 1988.

CURL, J. L.; PETERS, L. L. Ketamine hydrochloride and xylazine hydrochloride anaesthesia in the golden hamster (*Mesocricetus auratus*). **Laboratory Animals**, v. 17, n. March, p. 290–293, 1983.

DAHAN, A.; AARTS, L.; SMITH, T. W. Incidence, reversal, and prevention of opioid-induced respiratory depression. **Anesthesiology**, v. 112, n. 1, p. 226–238, 2010.

DAHL, J. B.; MOINICHE, S. Pre-emptive analgesia. **British Medical Bulletin**, v. 71, p. 13–27, 2004.

DAVY, C. W. et al. Local myotoxicity of ketamine hydrochloride in the marmoset. **Laboratory Animals**, v. 21, n. 1, p. 60–67, 1987.

DEA-AYUELA, M. A. et al. Setting new immunobiological parameters in the hamster model of visceral leishmaniasis for In Vivo testing of antileishmanial compounds. **Veterinary Research Communications**, v. 31, n. 6, p. 703–717, 2007.

DECKARDT, K. et al. The effects of inhalation anaesthetics on common clinical pathology parameters in laboratory rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 45, n. 9, p. 1709–1718, 2007.

DIEHL, K.-H. et al. A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including routes and volumes. **Journal of Applied Toxicology**, v. 21, n. 1, p. 15–23, 2002.

DONG, X. et al. Expression and activity levels of chymase in mast cells of burn wound tissues increase during the healing process in a hamster model. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 9, p. 2190–2194, 2015.

DRIESSEN, B.; REIMANN, W.; GIERTZ, H. Effects of the central analgesic tramadol on the uptake and release of noradrenaline and dopamine in vitro. **British Journal of Pharmacology**, v. 108, n. 3, p. 806–811, 1993.

DULING, B. R. The preparation and use of the hamster cheek pouch for studies of the microcirculation. **Microvascular Research**, v. 5, n. 3, p. 423–429, 1973.

EVANGELISTA VAZ, R. et al. Preliminary pharmacokinetics of tramadol hydrochloride after administration via different routes in male and female B6 mice. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 45, n. 1, p. 111–122, 2018.

EVANS, G. O. **Animal hematotoxicology: A Practical Guide for Toxicologists and Biomedical Researchers**. [S.I.]: CRC Press, 2009.

FALLER, K. M. E. et al. Refinement of analgesia following thoracotomy and experimental myocardial infarction using the mouse grimace scale. **Experimental Physiology**, v. 100, n. 2, 2015.

FANTONI, D. T.; CORTOPASSI, S. R. G.; BERNARDI, M. M. Anestésicos intravenosos e outros parenterais. In: SPINOSA, H. DE S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. (Ed.). **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 6. ed. [S.I.]: Guanabara, 2017. p. 143–153.

FERNÁNDEZ, I. et al. Clinical biochemistry parameters in C57bl/6j mice after blood collection from the submandibular vein and retroorbital plexus. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v. 49, n. 2, p. 202–206, 2010.

FLECKNELL, P. **Laboratory animal anaesthesia**. 3rd. ed. [S.I.]: Elsevier Inc., 2009.

FLECKNELL, P. **Laboratory animal anaesthesia**. 4th. ed. [S.I.]: Elsevier Inc., 2016.

FLECKNELL, P. Rodent analgesia: assessment and therapeutics. **The Veterinary Journal**, v. 232, p. 70–77, 2018a.

FLECKNELL, P. Analgesics in small mammals. **Veterinary Clinics of North America - Exotic Animal Practice**, v. 21, n. 1, p. 83–103, 2018b.

FLECKNELL, P. A.; THOMAS, A. A. Comparative anesthesia and analgesia of laboratory animals. In: GRIMM, K. A. et al. (Ed.). **Veterinary anesthesia and analgesia**. 5th. ed. [S.I.]: Wiley-Blackwell, 2015. p. 754–763.

FLORAS, J. S. Alterations in the sympathetic and parasympathetic nervous systems in heart failure. In: MANN, D. L.; FELKER, G. M. (Ed.). **Heart failure**. 2nd. ed. [S.I.]: Elsevier Inc., 2011. p. 254–278.

FOLEY, P. et al. ACLAM position statement on rodent surgery. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v. 55, n. 6, p. 822–823, 2016.

GAD, S. C.; HESS, F. G. The Hamster. In: GAD, S. C. (Ed.). **Animal models in toxicology**. 2nd. ed. [S.I.]: Taylor & Francis Group, 2007. p. 277–331.

GADES, N. M. et al. The magnitude and duration of the analgesic effect of morphine, butorphanol, and buprenorphine in rats and mice. **Contemporary topics in laboratory animal science**, v. 39, n. 2, p. 8–13, 2000.

GAERTNER, D. J. et al. Anesthesia and analgesia for laboratory rodents. In: FISH, R. et al. (Ed.). **Anesthesia and Analgesia in Laboratory Animals**. 2nd. ed. [S.I.]: Elsevier Inc., 2008. p. 239–297.

GARCIA, J. B. S.; CARDOSO, M. G. de M.; DOS-SANTOS, M. C. Opioides y el sistema inmune: Relevancia Clínica. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 62, n. 5, p. 709–718, 2012.

GHAFFARI, M. S.; MOGHADDASSI, A. P. Effects of ketamine-diazepam and ketamine-acepromazine combinations on intraocular pressure in rabbits. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 37, n. 3, p. 269–272, 2010.

GREEN, C. J. et al. Ketamine alone and combined with diazepam or xylazine in laboratory animals: A 10 year experience. **Laboratory Animals**, v. 15, n. 2, p. 163–170, 1981.

GREENE, S. A.; THURMON, J. C. Xylazine--a review of its pharmacology and use in veterinary medicine. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics.**, v. 11, n. 4, p. 295–313, 1988.

HAAKE, D. A. Hamster model of leptospirosis. **Current Protocols Microbiology**, p. 1–16, 2006.

HAJIGHAHRAMANI, S.; VESAL, N. Evaluation of several drug combinations for intraperitoneal anaesthesia in adult male rats. **Iranian Journal of Veterinary Research**, v. 8, n. 2, p. 106–115, 2007.

HALL, L. W.; CLARKE, K. W.; TRIM, C. M. **Veterinary Anaesthesia**. 10th. ed. [S.l.]: Harcourt Publishers Limited, 2001.

HANKENSON, F. C.; JR., G. L. V. H. Biology and diseases of hamsters. **Laboratory Animal Medicine**, p. 167–202, 2002.

HARAGUCHI, Y. et al. Cell sheet engineering for cardiac repair and regeneration. In: LI, R.-K.; WEISEL, R. D. (Ed.). **Cardiac Regeneration and Repair: Biomaterials and Tissue Engineering**. 1st. ed. [S.l.]: Woodhead Publishing Limited, 2014. p. 225–235.

HASKINS, S. C. Monitoring anesthetized patients. In: GRIMM, K. A. et al. (Ed.). **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**. 5th. ed. [S.l.]: Wiley-Blackwell, 2015. p. 86–113.

HEAD, J. R.; BILLINGHAM, R. E. Immunologically Privileged Sites in Transplantation Immunology and Oncology. **Perspectives in Biology and Medicine**, v. 29, n. 1, p. 115–131, 1985.

HEATLEY, J. J.; HARRIS, M. C. Hamsters and gerbils. In: MITCHELL, M. A.; TULLY, T. N. (Ed.). **Manual of Exotic Pet Practice**. [s.l.] Elsevier, 2009. p. 406–432.

HEAVNER, J. E.; COOPER, D. M. Pharmacology of analgesics. In: FISH, R. E. et al. (Ed.). **Anesthesia and Analgesia in Laboratory Animals**. 2nd. ed. [S.l.]: Elsevier Inc., 2008. p. 97–18.

HEIMANN, M. et al. Sublingual and submandibular blood collection in mice: A comparison of effects on body weight, food consumption and tissue damage. **Laboratory Animals**, v. 44, n. 4, p. 352–358, 2010.

HIROTA, K. et al. Stereoselective interaction of ketamine with recombinant mu, kappa and delta opioid receptors expressed in chinese hamster ovary cells. **Anesthesiology**, v. 90, p. 174–182, 1999.

HOCHMAN, B. et al. Integração do enxerto heterólogo de pele humana no subepitélio da bolsa jugal do hamster (*Mesocricetus auratus*). **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 18, n. 5, p. 415–430, 2003.

HOCHMAN, B. et al. Experimental model in hamster (*Mesocricetus auratus*) to study heterologous graft of scars and cutaneous diseases in plastic surgery. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 19, suppl. 1, p. 69–78, 2004.

HOGGATT, J. et al. Bleeding the laboratory mouse: Not all methods are equal. **Experimental Hematology**, v. 44, n. 2, p. 132–137, 2016.

HOUSE, E. L.; PANSKY, B.; JACOBS, M. S. Age changes in blood of the golden hamster. **American Journal of Physiology-Legacy Content**, v. 200, n. 5, p. 1018–1022, 1961.

HUNTER, L. J.; WOOD, D. M.; DARGAN, P. I. The patterns of toxicity and management of acute nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID) overdose. **Open Access Emergency Medicine**, v. 3, p. 39–48, 2011.

JIRKOF, P. Side effects of pain and analgesia in animal experimentation. **LabAnimal**, v. 46, n. 4, p. 123–128, 2017.

JOHNSTON, L.; NARBE, R. Preferential accumulation of meloxicam in inflamed synovial joints of dogs. **Veterinary Record**, v. 170, n. 8, p. 207.1-207, 2012.

KENDALL, L. V et al. Pharmacokinetics of sustained-release analgesics in mice. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v. 53, n. 5, p. 478–484, 2014.

KEST, B.; SARTON, E.; DAHAN, A. Gender differences in opioid-mediated analgesia: animal and human studies. **Anesthesiology**, v. 93, n. 2, p. 539–47, 2000.

KIMBERLIN, R. H.; WALKER, C. A. Pathogenesis of scrapie (strain 263k) in hamsters infected intracerebrally, intraperitoneally or intraocularly. **Journal of General Virology**, v. 67, n. 2, p. 255–263, 1986.

KOHN, D. F. et al. Guidelines for the assessment and treatment of pain in rodents and rabbits. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v. 46, n. 2, p. 97–108, 2007.

KUKANICH, B.; WIESE, A. J. Opioids. In: GRIMM, K. A. et al. (Ed.). **Veterinary anesthesia and analgesia**. 5th. ed. [S.l.]: Wiley-Blackwell, 2015. p. 207–226.

KUMAR, S. et al. Effects of perioperative hypothermia and warming in surgical practice. **International Wound Journal**, v. 2, n. 3, p. 193–222, 2005.

LAZO, J. S. et al. Bleomycin: A pharmacologic tool in the study of the pathogenesis of interstitial pulmonary fibrosis. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 47, n. 3, p. 347–358, 1990.

LICHTENBERGER, M.; KO, J. Anesthesia and analgesia for small mammals and birds. **Veterinary clinics of North America: exotic animal practice**, v. 10, n. 2, p. 293–315, 2007.

LONGLEY, L. **Anaesthesia of exotic pets**. [S.l.]: Saunders Ltd., 2008.

LOOMIS, M. R.; HENRICKSON, R. V.; ANDERSON, J. H. Effects of ketamine hydrochloride on the hemogram of rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). **Laboratory Animal Science**, v. 30, n. 5, p. 851–853, 1980.

LUGO-ROMAN, L. A. et al. Effects of serial anesthesia using ketamine or ketamine/medetomidine on hematology and serum biochemistry values in rhesus macaques (*Macaca mulatta*). **Journal of Medical Primatology**, v. 39, n. 1, p. 41–49, 2010.

MAGERS, T. et al. CIGARETTE SMOKE INHALATION AFFECTS THE REPRODUCTIVE SYSTEM OF FEMALE HAMSTERS. **Reproductive Toxicology**, v. 9, n. 6, p. 513–525, 1995.

MAHL, A. et al. Comparison of clinical pathology parameters with two different blood sampling techniques in rats: retrobulbar plexus versus sublingual vein. **Laboratory Animals**, v. 34, n. 4, p. 351–361, 2000.

MAIO, A.; DOWD, F. J. Hypertriglyceridemia. **Reference Module in Biomedical Sciences**, n. January 2016, p. 24–27, 2017.

MATHIESEN, O. et al. Adverse effects of perioperative paracetamol, NSAIDs, glucocorticoids, gabapentinoids and their combinations: A topical review. **Acta Anaesthesiologica Scandinavica**, v. 58, n. 10, p. 1182–1198, 2014.

MAYER, J.; MANS, C. Rodents. In: CARPENTER, J. W. (Ed.). **Exotic animal formulary**. 5th. ed. [S.l.]: Elsevier Inc., 2018. p. 657-707.

MCKEON, G. P. et al. Hematologic, serologic, and histologic profile of aged Siberian hamsters (*Phodopus sungorus*). **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v. 50, n. 3, p. 308–316, 2011.

MELILLO, A. Rabbit clinical pathology. **Journal of Exotic Pet Medicine**, v. 16, n. 3, p. 135–145, 2007.

MEYER, R. E.; FISH, R. E. Pharmacology of injectable anesthetics, sedatives, and tranquilizers. In: FISH, R. E. et al. (Ed.). **Anesthesia and analgesia in laboratory animals**. 2nd. ed. [S.l.]: Elsevier Inc., 2008. p. 27–82.

MILLER, A. L. et al. A comparison of abdominal and scrotal approach methods of vasectomy and the influence of analgesic treatment in laboratory mice. **Laboratory Animals**, v. 46, n. 4, p. 304–310, 2012.

MONTEIRO, E. C. A. et al. Os antiinflamatórios não esteroidais (AINEs). **Temas de Reumatologia Clínica**, v. 9, n. 2, p. 53–63, 2008.

MORTON, D. et al. Refining procedures for the administration of substances. **Laboratory Animals**, v. 35, p. 1–41, 2001.

MUNSON, E. et al. Hamster and murine models of severe destructive lyme arthritis. **Clinical and Developmental Immunology**, v. 2012, p. 12, 2012.

NAGREBETSKY, A. et al. Perioperative thrombocytopenia: evidence, evaluation, and emerging therapies. **British Journal of Anaesthesia**, v. 122, n. 1, p. 19–31, 2018.

NAKAMURA, T. et al. Effects of a mixture of medetomidine, midazolam and butorphanol on anesthesia and blood biochemistry and the antagonizing action of atipamezole in hamsters. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v. 79, n. 7, p. 1230–1235, 2017.

NEMZEK, J. A. et al. Differences in normal values for murine white blood cell counts and other hematological parameters based on sampling site. **Inflammation Research**, v. 50, n. 10, p. 523–527, 2001.

NOBLE, S.; BALFOUR, J. A. Meloxicam. **Drugs**, v. 51, n. 3, p. 424–430, 1996.

JOSLIN, J. O. Blood Collection Techniques in Exotic Small Mammals. **Journal of Exotic Pet Medicine**, v. 18, n. 2, p. 117–139, 2009.

OYAMA, T. et al. Effect of tramadol on pain-related behaviors and bladder overactivity in rodent cystitis models. **European Journal of Pharmacology**, v. 676, n. 1–3, p. 75–80, 2012.

PEHLIVAN, B. et al. Comparison of the effects of repeated dose treatments of lornoxicam and meloxicam on renal functions in rats. **Turkish Journal of Medical Sciences**, v. 40, n. 3, p. 371–376, 2010.

PICOLLO, C. et al. Hemodynamic and thermoregulatory effects of xylazine-ketamine mixture persist even after the anesthetic stage in rats. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia**, v. 64, n. 4, p. 860–864, 2012.

PILNY, A. A. Clinical Hematology of Rodent Species. **Veterinary Clinics of North America: exotic animal practice**, v. 11, n. 3, p. 523–533, 2008.

RAJAEI, S. M. et al. Effects of diurnal variation and anesthetic agents on intraocular pressure in Syrian hamsters (*Mesocricetus auratus*). **American Journal of Veterinary Research**, v. 78, n. 1, p. 85–89, 2017.

RANKIN, D. C. Sedatives and tranquilizers. In: GRIMM, K. A. et al. (Ed.). **Veterinary anesthesia and analgesia**. 5th. ed. [S.l.]: Wiley-Blackwell, 2015. p. 196–206.

REAGAN, W. J.; POITOUT-BELISSENT, F. M.; ROVIRA, A. R. I. Design and Methods used for preclinical hematotoxicity studies. In: WEISS, D. J.; WARDROP, K. J. (Ed.). **Schalms veterinary hematology**. 6th. ed. [S.I.]: Blackwell Publishing Ltd., 2010. p. 71–77.

RODRIGUES, M. V. et al. The gingival vein as a minimally traumatic site for multiple blood sampling in Guinea pigs and hamsters. **PLoS ONE**, v. 12, n. 5, p. 1–16, 2017.

RUSSELL, K. E. Platelet kinetics and laboratory evaluation of thrombocytopenia. In: WEISS, D. J.; WARDROP, K. J. (Ed.). **Schalms Veterinary Hematology**. 6th. ed. [S.I.]: Blackwell Publishing Ltd., 2010. p. 576–585.

SAFRONETZ, D. et al. The Syrian hamster model of hantavirus pulmonary syndrome. **Antiviral Research**, v. 95, n. 3, p. 282–292, 2012.

SAHA, J. K. et al. Acute hyperglycemia induced by ketamine/xylazine anesthesia in rats: mechanisms and implications for preclinical models. **Experimental Biology and Medicine**, v. 230, n. 10, p. 777–784, 2005.

SANTOS, B. F. dos. Criação e manejo de hamsters. In: ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. de (Ed.). **Animais de Laboratório: criação e experimentação**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2002. p. 122–126.

SCHNELL, M. A. et al. Effect of blood collection technique in mice on clinical pathology parameters. **Human Gene Therapy**, v. 13, n. 1, p. 155–161, 2002.

SCHULZ, K. M.; SISK, C. L. Pubertal hormones, the adolescent brain, and the maturation of social behaviors: lessons from the syrian hamster. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 254–255, p. 120–126, 2006.

SCOTT, E. M.; BUCKLAND, R. A systematic review of intraoperative warming to prevent postoperative complications. **AORN Journal**, v. 83, n. 5, p. 1090–1113, 2006.

SHEFFIELD, C. W.; SESSLER, D. I.; HUNT, T. K. Mild hypothermia during isoflurane anesthesia decreases resistance to *E. coli* dermal infection in guinea pigs. **Acta Anaesthesiologica Scandinavica**, v. 38, p. 201–205, 1994.

SIMPSON, E. A historical perspective on immunological privilege. **The English Journal**, v. 213, p. 12–22, 2006.

SMITH, J. C.; DANNEMAN, P. J. Monitoring of Anesthesia. In: FISH, R. E. et al. (Ed.). **Anesthesia and analgesia in laboratory animals**. 2nd. ed. [S.I.]: Elsevier Inc., 2008. p. 171–182.

SMITH, S. A.; ZIMMERMAN, K. L.; MOORE, D. M. Hematology of the syrian (golden) hamster. In: WEISS, D. J.; WARDROP, K. J. (Ed.). **Schalms veterinary hematology**. 6th. ed. [S.I.]: Blackwell Publishing Ltd., 2010. p. 904–909.

SOHN, E.; DAGGY, B. P.; ARJMANDI, B. H. Ovariectomized hamster: a potential model of postmenopausal hypercholesterolemia. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 10, n. 11, p. 660–663, 1999.

SPINOSA, H. de S.; GÓRNIK, S. L. Tranquilizantes, Agonistas de alfa-2-adrenorreceptores e Relaxantes Musculares de Ação Central. In: SPINOSA, H. de S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. (Ed.). **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 6. ed. [S.I.]: Guanabara, 2017. p. 172–183.

STOKES, E. L.; FLECKNELL, P. A.; RICHARDSON, C. A. Reported analgesic and anaesthetic administration to rodents undergoing experimental surgical procedures. **Laboratory Animals**, v. 43, p. 149–154, 2009.

STRUILLLOU, X. et al. Experimental animal models in periodontology: a review. **The Open Dentistry Journal**, v. 4, n. 1, p. 37–47, 2010.

SUAREZ, S. S. Gamete and Zygote Transport. In: **Knobil and Neill's Physiology of Reproduction**. 4th. ed. [s.l.] Elsevier Inc., 2015. 1p. 197–232.

SVENSJO, E. The hamster cheek pouch as a model in microcirculation research. **The European respiratory journal**, v. 12, n. January 1991, p. 195–200, 1990.

TAKHTFOOLADI, H. A. et al. Influence of tramadol on ischemia-reperfusion injury of rats' skeletal muscle. **International Journal of Surgery**, v. 12, n. 9, p. 963–968, 2014a.

TAKHTFOOLADI, M. A. et al. Neuroprotective effects of tramadol on cerebral injuries caused by hind limb ischaemia/reperfusion in rats. **Comparative Clinical Pathology**, v. 23, n. 5, p. 1141–1146, 2014b.

TANAKA, D. M. et al. Effect of different anesthetic agents on left ventricular systolic function assessed by echocardiography in hamsters. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 49, n. 10, p. 1–7, 2016.

TAYLOR, B. F. et al. Analgesic activity of tramadol and buprenorphine after voluntary ingestion by rats (*rattus norvegicus*). **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v. 55, n. 1, p. 74–82, 2016.

TEIXEIRA, B. C. et al. Marcadores inflamatórios, função endotelial e riscos cardiovasculares. **Jornal Vascular Brasileiro**, v. 13, n. 2, p. 108–115, 2014.

TOFT, M. F. et al. The impact of different blood sampling methods on laboratory rats under different types of anaesthesia. **Laboratory Animals**, v. 40, n. 3, p. 261–274, 2006.

TSUKAMOTO, A. et al. Vital signs monitoring during injectable and inhalant anesthesia in mice. **Experimental Animals**, v. 64, n. 1, p. 57–64, 2015.

TURNER, P. et al. ACLAM position statement on pain and distress in research animals. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v. 55, n. 6, p. 821, 2016.

TURNER, P. V. et al. Administration of substances to laboratory animals: routes of administration and factors to consider. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science: JAALAS**, v. 50, n. 5, p. 600–613, 2011.

VAIRAKTARIS, E. et al. The hamster model of sequential oral oncogenesis. **Oral Oncology**, v. 44, n. 4, p. 315–324, 2008.

VALADÃO, C. A. A. Anestésicos dissociativos. In: FANTONI, D. T.; CORTOPASSI, S. R. G. (Ed.). **Anestesia em cães e gatos**. 2nd. ed. [S.l.]: Roca, 2010. p. 238–245.

VALENTINE, H. et al. The experimental use of syrian hamsters. In: SUCKOW, M. A.; STEVENS, K. A.; WILSON, R. P. (Ed.). **The laboratory rabbit, guinea pig, hamster, and other rodents**. [S.l.]: Elsevier Inc., 2012. p. 875–906.

SCHIER, R. van der et al. Opioid-induced respiratory depression: reversal by non-opioid drugs. **F1000Prime Reports**, v. 6, n. 79, p. 1–8, 2014.

QUIMBY, F. W.; LUONG, R. H. Clinical Chemistry of the Laboratory Mouse. In: FOX, J. G. et al. (Ed.). **The Mouse in Biomedical Research**, v. 3, 2nd. ed. [S.l.]: Elsevier, 2007. p. 171–216.

WALL, H. S.; WORTHMAN, C.; ELSE, J. G. Effects of ketamine anaesthesia, stress and repeated bleeding on the haematology of vervet monkeys. **Laboratory Animals**, v. 19, n. 2, p. 138–144, 1985.

WASHINGTON, I. M.; VAN HOOSIER, G. Clinical biochemistry and hematology. In: SUCKOW, M. A.; STEVENS, K. A.; WILSON, R. P. (Ed.). **The laboratory rabbit, guinea pig, hamster, and other rodents**. [S.l.]: Elsevier Inc., 2012. p. 57–116.

WATTENBERG, L. W.; WIEDMANN, T. S.; ESTENSEN, R. D. Chemoprevention of cancer of the upper respiratory tract of the syrian golden hamster by aerosol administration of difluoromethylornithine and 5-fluorouracil. **Cancer Research**, v. 64, n. 7, p. 2347–2349, 2004.

WHITE, P. F.; WAY, W. L.; TREVOR, A. J. Ketamine - its pharmacology and therapeutic uses. **Anesthesiology**, v. 56, n. 2, p. 119–36, 1982.

WHITE, W. J.; FIELD, K. J. Anesthesia and surgery of laboratory animals. **Veterinary Clinics of North America: small animal practice**, v. 17, n. 5, p. 989–1017, 1987.

WOLD, W. S. M.; TOTH, K. Syrian Hamster as an Animal Model to Study Oncolytic Adenoviruses and to Evaluate the Efficacy of Antiviral Compounds. In: CURIEL, D. T.; FISHER, P. B. (Ed.). **Applications of viruses for cancer therapy**. 1. ed. [s.l.] Elsevier Inc., 2012. 115p. 69–92.

WOLFORD, S. T. et al. Reference range data base for serum chemistry and hematology values in laboratory animals. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, v. 18, n. 2, p. 161–188, 1986.

WONG, D. T. et al. Sequential expression of transforming growth factors alpha and beta 1 by eosinophils during cutaneous wound healing in the hamster. **The American Journal of Pathology**, v. 143, n. 1, p. 130–142, 1993.

WRIGHT-WILLIAMS, S. L. et al. Effects of vasectomy surgery and meloxicam treatment on faecal corticosterone levels and behaviour in two strains of laboratory mouse. **Pain**, v. 130, n. 1–2, p. 108–118, 2007.

WYLLIE, S.; FAIRLAMB, A. H. Refinement of techniques for the propagation of *Leishmania donovani* in hamsters. **Acta Tropica**, v. 97, n. 3, p. 364–369, 2006.

YAMAGATA, K. et al. Expression of a mitogen-inducible cyclooxygenase in brain neurons: Regulation by synaptic activity and glucocorticoids. **Neuron**, v. 11, n. 2, p. 371–386, 1993.

YANG, H.; CHEN, C. Cyclooxygenase-2 in Synaptic Signaling. **Current Pharmaceutical Design**, v. 14, n. 14, p. 1443–1451, 2008.

YASUHARA, H. et al. A new model for studying ischemia-reperfusion injury in hamster cheek pouch. **American Journal of Physiology**, v. 261, n. 5, p. H1626–H1629, 1991.

ZAMBRICKI, E. A.; D'ALECY, L. G. Rat sex differences in anesthesia. **Comparative Medicine**, v. 54, n. 1, p. 49–53, 2004.

APÊNDICE B - Dados estatísticos do teste t de *student* não pareado, monocaudal, referentes aos tempos de anestesia quando comparados machos e fêmeas submetidos ao mesmo protocolo (n=6/grupo)

Comparação entre os períodos anestésicos de machos e fêmeas submetidos ao protocolo AXCM			
	P	t	df
Indução	0,0187	2,222	21
Anestesia sem O ₂	0,0003	4,968	10
Recuperação sem O ₂	0,2343	0,7533	10
Anestesia com O ₂	0,0338	2,050	10
Recuperação com O ₂	0,2111	0,8409	9
Comparação entre os períodos anestésicos de machos e fêmeas submetidos ao protocolo AXCT			
	P	t	df
Indução	0,015	2,321	22
Anestesia sem O ₂	0,0008	4,414	9
Recuperação sem O ₂	0,0553	1,751	10
Anestesia com O ₂	0,2893	0,5740	10
Recuperação com O ₂	0,1875	0,9286	10

APÊNDICE C - Dados estatísticos do teste t de *student* não pareado, monocaudal, referentes aos tempos de anestesia quando comparados os grupos submetidos aos protocolos AXCM ou AXCT que receberam ou não suporte de oxigênio (n=6/grupo)

Comparação entre os períodos anestésicos de machos submetidos ao protocolo AXCM com ou sem suporte de oxigênio			
	P	t	df
Anestesia	0,039	1,964	10
Recuperação	0,1478	1,104	10
Comparação entre os períodos anestésicos de fêmeas submetidas ao protocolo AXCM com ou sem suporte de oxigênio			
	P	t	df
Anestesia	0,3826	0,3069	10
Recuperação	0,0741	1,567	10
Comparação entre os períodos anestésicos de machos submetidos ao protocolo AXCT com ou sem suporte de oxigênio			
	P	t	df
Anestesia	0,0039	3,410	9
Recuperação	0,3084	0,5165	10
Comparação entre os períodos anestésicos de fêmeas submetidas ao protocolo AXCT com ou sem suporte de oxigênio			
	P	t	df
Anestesia	0,3037	0,5304	10
Recuperação	0,0214	2,320	10

APÊNDICE D - Dados estatísticos do teste t de *student* não pareado, monocaudal, referentes aos tempos de anestesia quando comparados animais submetidos a protocolos distintos (n=6/grupo)

Comparação entre os períodos anestésicos de machos submetidos ao protocolo AXCT ou AXCM			
	P	t	df
Indução	0,0494	1,727	21
Anestesia sem O ₂	0,0033	3,519	9
Recuperação sem O ₂	0,0577	1,724	10
Anestesia com O ₂	0,0346	2,035	10
Recuperação com O ₂	0,0496	1,838	9
Comparação entre os períodos anestésicos de fêmeas submetidas ao protocolo AXCT ou AXCM			
	P	t	df
Indução	0,0064	2,720	21
Anestesia sem O ₂	0,0001	5,817	10
Recuperação sem O ₂	0,0004	4,696	10
Anestesia com O ₂	0,0338	2,050	10
Recuperação com O ₂	0,4083	0,2380	10

APÊNDICE E - Dados estatísticos do teste ANOVA de duas vias referentes aos parâmetros fisiológicos quando comparados os diferentes grupos submetidos ao protocolo AXCM (n=6/grupo). $p < 0,05$

Comparação entre os parâmetros fisiológicos de machos e fêmeas submetidos ao protocolo AXCM sem suporte de oxigênio				
Parâmetro	Interação	Tempo	Protocolo	Indivíduos
Temp.	0,0697	0,0065	0,1765	<0,0001
FC	0,4617	0,0299	0,0526	<0,0001
FR	0,1813	0,4026	0,0601	<0,0001
SO ₂	0,4580	0,0050	>0,9999	0,2542
Comparação entre os parâmetros fisiológicos de machos e fêmeas submetidos ao protocolo AXCM com suporte de oxigênio				
Parâmetro	Interação	Tempo	Protocolo	Indivíduos
Temp.	0,6611	0,8385	0,3924	<0,0001
FC	0,0018	0,0007	0,0179	0,0002
FR	0,2613	0,0030	0,4315	<0,0001
SO ₂	0,1586	<0,0001	0,2133	0,0449
Comparação entre os parâmetros fisiológicos de machos com ou sem oxigênio, submetidos ao protocolo AXCM				
Parâmetro	Interação	Tempo	Protocolo	Indivíduos
Temp.	0,9863	0,8380	0,5439	<0,0001
FC	0,4201	0,1447	0,5074	<0,0001
FR	0,1012	0,0072	0,7542	<0,0001
SO ₂	<0,0001	0,0030	0,0004	0,0421
Comparação entre os parâmetros fisiológicos de fêmeas com ou sem oxigênio, submetidas ao protocolo AXCM				
Parâmetro	Interação	Tempo	Protocolo	Indivíduos
Temp.	0,0691	0,0981	0,4632	<0,0001
FC	0,0671	<0,0001	0,2308	<0,0001
FR	0,0579	0,2127	0,1591	<0,0001
SO ₂	<0,0001	0,6004	<0,0001	0,4352

APÊNDICE F - Dados estatísticos do teste ANOVA de duas vias referentes aos parâmetros fisiológicos quando comparados os diferentes grupos submetidos ao protocolo AXCT (n=6/grupo). $p < 0,05$

Comparação entre os parâmetros fisiológicos de machos e fêmeas submetidos ao protocolo AXCT sem suporte de oxigênio				
Parâmetro	Interação	Tempo	Protocolo	Subjects
Temp.	0,7771	0,9799	0,0185	0,0023
FC	0,0771	0,4734	0,3649	<0,0001
FR	0,2565	0,6497	0,4542	0,0264
SO ₂	0,2890	0,0584	0,0012	<0,0001
Comparação entre os parâmetros fisiológicos de machos e fêmeas submetidos ao protocolo AXCT com suporte de oxigênio				
Parâmetro	Interação	Tempo	Protocolo	Subjects
Temp.	0,0690	0,8102	0,5435	<0,0001
FC	0,6245	<0,0001	0,7374	<0,0001
FR	0,1120	0,0003	0,2185	0,0063
SO ₂	0,0167	<0,0001	0,1053	0,0341
Comparação entre os parâmetros fisiológicos de machos com ou sem oxigênio, submetidos ao protocolo AXCT				
Parâmetro	Interação	Tempo	Protocolo	Subjects
Temp.	0,8879	0,9701	0,3319	<0,0001
FC	0,0366	0,3031	0,8080	<0,0001
FR	0,1589	0,2968	0,2938	0,0980
SO ₂	<0,0001	0,0400	0,0523	0,0049
Comparação entre os parâmetros fisiológicos de fêmeas com ou sem oxigênio, submetidas ao protocolo AXCT				
Parâmetro	Interação	Tempo	Protocolo	Subjects
Temp.	0,2812	0,7665	0,6390	<0,0001
FC	0,4882	0,0100	0,1781	<0,0001
FR	0,0116	<0,0001	0,0422	<0,0001
SO ₂	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0037