

UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**EFEITOS DA MORFINA INTRAMUSCULAR SOBRE A
CONCENTRAÇÃO ALVEOLAR MÍNIMA DO ISOFLURANO, A
RESPOSTA NEUROENDÓCRINA NO PERÍODO TRANS-
OPERATÓRIO E A DOR PÓS-OPERATÓRIA EM CADELAS
SUBMETIDAS À OVARIOHISTERECTOMIA**

KARINA COELHO

VILA VELHA

MARÇO / 2013

UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**EFEITOS DA MORFINA INTRAMUSCULAR SOBRE A
CONCENTRAÇÃO ALVEOLAR MÍNIMA DO ISOFLURANO, A
RESPOSTA NEUROENDÓCRINA NO PERÍODO TRANS-
OPERATÓRIO E A DOR PÓS-OPERATÓRIA EM CADELAS
SUBMETIDAS À OVARIOHISTERECTOMIA**

Dissertação apresentada a Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, para a obtenção grau de Mestre em Ciência Animal.

KARINA COELHO

VILA VELHA

MARÇO / 2013

Catálogo na publicação elaborada pela Biblioteca Central / UVV-ES

C672e Coelho, Karina.

Efeitos da morfina intramuscular sobre a concentração alveolar mínima do isofurano, a resposta neuroendócrina no período trans-operatório e a dor pós-operatória em cadelas submetidas à ovariectomia / Karina Coelho. – 2013.
75 f. : il.

Orientador: Eduardo Raposo Monteiro.

Dissertação (mestrado em Ciência Animal) - Universidade Vila Velha, 2013.
Inclui bibliografias.

1. Anestésicos em medicina veterinária. 2. Opióides. 3. Medicamentos - Dosagem. 4. Morfina. I. Monteiro, Eduardo Raposo. II. Universidade Vila Velha. III. Título.

CDD 636.7089796

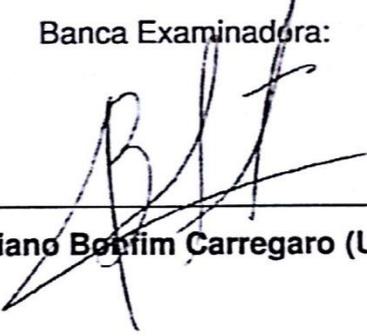
KARINA COELHO

**EFEITOS DA MORFINA INTRAMUSCULAR SOBRE A
CONCENTRAÇÃO ALVEOLAR MÍNIMA DO ISOFLURANO, A
RESPOSTA NEUROENDÓCRINA NO PERÍODO TRANS-
OPERATÓRIO E A DOR PÓS-OPERATÓRIA EM CADELAS
SUBMETIDAS À OVARIOHISTERECTOMIA**

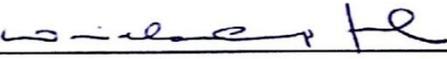
Dissertação apresentada a
Universidade Vila Velha, como pré-
requisito do Programa de Pós-
graduação em Ciência Animal, para
a obtenção grau de Mestre em
Ciência Animal.

Aprovada em 13 de março de 2013,

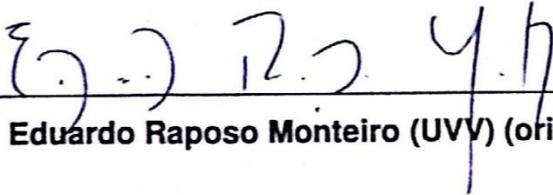
Banca Examinadora:



Adriano Bonfim Carregaro (USP)



Daniela Campagnol (UVV)



Eduardo Raposo Monteiro (UVV) (orientador)

DEDICATÓRIA

A essência da minha vida: meus pais, Eustáquio Coelho da Silva e Elaine Perim Xavier Coelho, meu tudo! Mãezinha tão querida e amiga, Paizinho tão presente e companheiro. Aqueles que são meu espelho, sinônimo de dignidade, honestidade e caráter, meu eterno agradecimento.

Ao meu marido, Juliano Izidoro da Silva, por ser o amor da minha vida, pelo carinho, incentivo e companheirismo incondicional. Sem sua força e seu apoio nada seria assim.

AGRADECIMENTOS

*Primeiramente, e acima de tudo, a **Deus** por ter me proporcionado a vida e uma família abençoada.*

*Ao meu orientador, **Eduardo Raposo Monteiro**, não apenas pela orientação no desenvolvimento deste trabalho, mas principalmente por ter me apresentado e me acolhido no mundo da anestesia quando eu menos esperava, por ter me aceitado ao longo desses dois anos como sua orientada mesmo sabendo que eu estava longe de ser uma anestesista nata, por ter me transmitido todo seu largo conhecimento, por todos os puxões de orelha e pela rígida maneira de querer qualidade no serviço de anestesiologia, pela infinita paciência e generosidade em me ensinar coisas básicas, pela ajuda fundamental para a redação desta dissertação, por ter sido um verdadeiro amigo nos momentos mais difíceis que passei, pelos conselhos para a vida, por abrir as portas do seu lar para eu conviver com sua família, por ter sido muito mais que um orientador, um verdadeiro paizão.*

*À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)** pelo suporte financeiro, para a realização da pesquisa e com o auxílio através de bolsa mensal, que me proporcionou realizar esta etapa acadêmica.*

*À **Thais Feres Bressan** por ter sido a companheira de mestrado mais irreverente que existe nesse mundo, por toda a paciência e colaboração que teve comigo durante esses dois anos, por ter dividido comigo as melhores e piores experiências desse período, por ter me ajudado e me ensinado durante todo o experimento, por ter sido além de companheira uma parceira que passou a ser uma grande amiga e, claro, por me mostrar o quanto realmente sou “crua”.*

*À professora **Betania Souza Monteiro** por ter contribuído veementemente neste trabalho, por ter se disponibilizado sempre sem qualquer objeção, por ter sido uma grande incentivadora em todas as horas, pelos muitos momentos de diversão dentro do centro cirúrgico, por ter sido uma grande ouvinte nos momentos de desabafo, por ter sido além de uma excepcional professora uma grande e querida amiga.*

*À professora **Daniela Campagnol** por ter sido sempre tão solícita em todos os momentos em que me viu precisando de ajuda, pelas orientações, pela transmissão gratuita de conhecimento e por todo o carinho que sempre teve comigo.*

À professora **Lukiya Silva Campos Favarato** pela grande solidariedade em ter nos emprestado seu monitor para que pudéssemos concluir nosso experimento além de nos ajudado com a indicação e envio ao laboratório de nossas amostras.

Aos amigos **Clarissa Simões Rangel** e **Thiago Rabello** por terem colaborado tantas vezes durante a realização dos experimento.

A coordenação do **Hospital Veterinário “Professor Ricardo Alexandre Hippler”** por disponibilizar a rotina de atendimento para a triagem dos animais e por permitir a realização do experimento em suas dependências.

Ao professor **Leandro Abreu** pela colaboração em ceder o laboratório clínico e **ao Fábio Porto Sena** por me ensinar e auxiliar no processamento das amostras sanguíneas.

A professora **Tatiana Champion** por ceder o aparelho de eletrocardiógrafo computadorizado (TEB), mas, principalmente por sempre me incentivar desde a graduação, por me tratar sempre com tanto carinho e por toda a atenção todas as vezes que a solicitei.

Ao **Guilherme Brandão** por ter colaborado com a estatística do presente estudo da forma mais voluntariosa e amigável.

Aos amigos **Laura Monteiro de Castro Conti** e **Carlos Henrique Tavares Mathias** pela amizade mais sincera, por tantos momentos de diversão, por toda a ajuda nos momentos mais difíceis, mas, principalmente, por termos a certeza de que somos uma família.

As minhas amigas do peito **Layra Francini Rizzi Casagrande** e **Tatiana Piumbini Azevedo** por terem me apoiado sempre e por nossa amizade continuar exatamente igual, mesmo com a ausência e distância.

As companheiras **Fernanda Lemos, Natalia Signoreli, Úrsula Guberman, Talita Pratti, Deizi Gonçalves, Júlia Picolli, Renata Conti** pelos momentos mais preciosos que haviam no nosso dia a dia.

A todos os funcionários do hospital veterinário, mas em especial à **Lurdinha, Sandra, D. Lúcia, Robson, Terezinha, Jukleber, Felipe, Mário** pela incansável forma de contribuir no meu dia a dia com toda a alegria, carinho e ajuda voluntária.

A todos os **43 animais** que participaram desse estudo, minha imensa gratidão por serem os responsáveis por me trazer maior responsabilidade, empenho, dedicação e força de vontade para estar aqui hoje defendendo este trabalho.

Ademais, **a todos** que torceram por mim!

COELHO, K. Universidade Vila Velha – ES, Março de 2013. **Efeitos da morfina intramuscular sobre a concentração alveolar mínima do isoflurano, a resposta neuroendócrina no período trans-operatório e a dor pós-operatória em cadelas submetidas à ovariectomia.** Orientador: Eduardo Raposo Monteiro.

RESUMO

Os efeitos da administração intramuscular de morfina (0,5 e 1,0 mg/kg) sobre a concentração alveolar mínima do isoflurano (CAM_{ISO}) foram estudados em 27 cadelas aleatoriamente distribuídas em três grupos: Controle (sem morfina, n=9), $MOR_{0,5}$ (n=10) e $MOR_{1,0}$ (n=8). A determinação da CAM_{ISO} foi baseada no método de Dixon (1965), empregando a incisão de pele como estímulo nociceptivo. Os valores da CAM_{ISO} no grupo Controle, $MOR_{0,5}$ e $MOR_{1,0}$ foram respectivamente (médias \pm DP): 1,20 \pm 0,10%, 0,98 \pm 0,14% e 0,80 \pm 0,07%. A CAM_{ISO} foi significativamente maior no Controle do que nos demais grupos e maior no $MOR_{0,5}$ do que no $MOR_{1,0}$. Em uma segunda fase do estudo, foram estudados os efeitos das mesmas doses de morfina sobre a resposta neuroendócrina durante a realização de ovariectomia (OHE) e sobre a dor pós-operatória em 16 cadelas (n=8 animais por grupo). Nessa segunda etapa, a concentração alveolar do isoflurano foi mantida em 2,0% e 1,6% nos grupos $MOR_{0,5}$ e $MOR_{1,0}$, respectivamente, correspondendo a 2 múltiplos da CAM_{ISO} determinada na primeira etapa. Foram monitoradas de forma invasiva as pressões arteriais sistólica (PAS), média (PAM) e diastólica (PAD) e a frequência cardíaca (FC) antes do início (basal) e em momentos específicos durante a OHE. Adicionalmente, foram mensuradas a glicemia e cortisol sérico no momento basal, durante a OHE e 2 horas após. A dor pós-operatória foi avaliada durante 6 horas após a extubação pelas escalas de Glasgow modificada (EGM) e analógica visual (EAV), com variação de 0-10, e o resgate analgésico foi administrado em caso de escores >3,5 pela EGM. Não houve diferença significativa entre os grupos na pressão arterial, glicemia e cortisol, mas houve aumentos significativos em relação ao basal na PAS, PAM, PAD e FC dos dois grupos, sendo a elevação na PAM acima de 100% durante o pinçamento e excisão dos pedículos ovarianos e coto uterino. O aumento máximo na FC variou de 32 a 38%. Os valores de FC foram significativamente maiores no $MOR_{0,5}$ do que no $MOR_{1,0}$ durante a OHE. A concentração sérica de cortisol aumentou significativamente durante a OHE e 2

horas após nos dois grupos. A glicemia aumentou somente após a OHE no grupo MOR_{1,0}. Os escores de dor não diferiram entre os grupos. Houve aumento significativo nos escores de dor pela EAV nos dois grupos de 1 a 4 horas após a OHE, mas não nos escores pela EGM. Não houve necessidade de resgate analgésico em nenhum dos grupos. Esses resultados sugerem que a administração intramuscular de morfina causa redução dose-dependente na CAM_{ISO} e que a técnica anestésica utilizada não foi eficiente para inibir a resposta neuroendócrina durante a cirurgia, mas foi eficaz no controle da dor pós-operatória em cadelas submetidas à OHE.

Palavras-chave: cão, opioide, efeitos cardiovasculares, anestesia balanceada, analgesia.

COELHO, K. Universidade Vila Velha – ES, Março de 2013. **Effects of intramuscular morphine on the minimum alveolar concentration of isoflurane, the peri-operative neuroendocrine response and post-operative pain in dogs undergoing ovariohysterectomy.** Orientador: Eduardo Raposo Monteiro.

ABSTRACT

The effects of intramuscular administration of morphine (0.5 and 1.0 mg/kg) on the minimum alveolar concentration of isoflurane (MAC_{ISO}) were studied in 27 bitches randomized into three groups: Control (no morphine, n=9), $MOR_{0,5}$ (n=10) and $MOR_{1,0}$ (n=8). The determination of MAC_{ISO} was based on the Dixon's up-and-down method and skin incision was the nociceptive stimuli employed. Values of the MAC_{ISO} in the Control, $MOR_{0,5}$ and $MOR_{1,0}$ groups were respectively (mean \pm SD): 1.20 \pm 0.10%, 0.98% \pm 0.14 and 0.80 \pm 0.07%. The MAC_{ISO} was significantly higher in the Control than in other groups and higher in $MOR_{0,5}$ than in $MOR_{1,0}$. In a second set of experiments, the effects of the same doses of morphine on the neuroendocrine response during ovariohysterectomy (OHE) and on postoperative pain were studied in 16 female dogs (n=8 per group). The end-tidal isoflurane concentration was maintained at 2.0% and 1.6% in groups $MOR_{0,5}$ and $MOR_{1,0}$, respectively, corresponding to 2 times the MAC_{ISO} determined in each group in the first set of experiments. Invasive systolic (SAP), mean (MAP) and diastolic (DBP) blood pressures and heart rate (HR) were recorded before the beginning (baseline - BL) and at specific time points during the OHE. Additionally, blood glucose and serum cortisol concentrations were measured at BL, during the OHE and 2 hours after surgery. The postoperative pain was evaluated for 6 hours after extubation by the modified Glasgow scale (GCPMS) and a visual analogue scale (VAS), both ranging from 0-10. Rescue analgesia was administered when pain scores were >3.5 according to the GCPMS. There was no significant difference between groups in blood pressure, blood glucose and cortisol, but there were significant increases from BL in SAP, MAP, DAP and HR in both groups, the increase in MAP being above 100% during ligation and excision of the ovarian pedicles and the uterus. The maximum increase in heart rate ranged from 32 to 38%. Heart rate values were significantly higher in $MOR_{0,5}$ than in $MOR_{1,0}$ during OHE. Serum cortisol increased significantly from BL during OHE and at 2 hours in both groups. Blood glucose increased only at 2 hours in $MOR_{1,0}$. Postoperative pain scores did not differ between

groups but were significantly higher than at BL in both groups from 1 to 4 hours according to the VAS. There was no need for rescue analgesia in any dog. These results suggest that intramuscular administration of morphine causes dose-related reductions in the MAC_{50} and that the anesthetic technique used was not efficient to inhibit the neuroendocrine response during surgery, but was effective in controlling postoperative pain in dogs undergoing OHE.

Keywords: dog, opioid, cardiovascular effects, balanced anesthesia, analgesia.

SUMÁRIO

RESUMO	
ABSTRACT	
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	
LISTA DE TABELAS	
LISTA DE ABREVEATURAS	
LISTA DE SÍMBOLOS	
INTRODUÇÃO	01
REVISÃO DE LITERATURA	03
Anestesia Inalatória	03
Isoflurano.....	03
Concentração Alveolar Mínima (CAM)	04
Opioides.....	07
Morfina	08
Efeitos sobre a CAM	09
Efeitos hemodinâmicos	10
OBJETIVOS	11
HIPÓTESES	12
CAPÍTULO 1: EFEITO DA MORFINA SOBRE A CONCENTRAÇÃO ALVEOLAR MÍNIMA (CAM) DO ISOFLURANO EM CADELAS SUBMETIDAS À OVARIOHISTERECTOMIA ELETIVA	13
MATERIAIS E MÉTODOS.....	13
RESULTADOS.....	18
DISCUSSÃO	23
CAPÍTULO 2: AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA MORFINA SOBRE A INIBIÇÃO DAS RESPOSTAS CARDIOVASCULAR E NEUROENDÓCRINA EM CADELAS SUBMETIDAS A OVARIOHISTERECTOMIA	27

MATERIAIS E MÉTODOS.....	27
RESULTADOS.....	32
DISCUSSÃO.....	44
CONCLUSÃO.....	49
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50

INTRODUÇÃO

A cirurgia de ovariectomia (OHE) em cadelas vem sendo cada vez mais frequente na rotina médica veterinária, principalmente devido a maior conscientização da população frente ao crescimento notável no número de cães errantes, trazendo riscos de zoonoses (Carter, 1990), e pela prevenção de quadros clínicos de piometra e neoplasia de glândulas mamárias (Fonseca e Daleck, 2000).

O procedimento cirúrgico tradicional para OHE causa dor tanto ao transcorrer da cirurgia, quanto no período pós-operatório (Hansen et al., 1997). Foi relatado em um estudo anterior (Boscan et al., 2011) que a tração ovariana em cadelas é um estímulo nociceptivo de intensidade semelhante aos estímulos considerados supramáximos, ou seja, estímulo cujo aumento em sua intensidade não causa dor adicional (Quasha et al., 1980).

O uso da anestesia inalatória em cães apresenta vantagens tais como a facilidade de ajuste do plano anestésico, rápida indução e recuperação além de proporcionar um estado anestésico com perda da consciência, amnésia e imobilidade, que são ideais para a realização de um procedimento cirúrgico. Entretanto, o uso isolado dos agentes halogenados, não causa analgesia específica e resulta em depressão cardiovascular dose dependente (Wouden e Miller, 2001; Steffey e Mama, 2007). Por isso, diversas técnicas anestésicas vêm sendo estudadas para proporcionar analgesia durante a realização da OHE, tais como o uso de anti-inflamatórios (Dzikiti et al., 2006), analgésicos opioides (Mastrocinque e Fantoni, 2003) e bloqueios anestésicos locais (Carpenter et al., 2004).

A associação de opioides aos anestésicos inalatórios têm demonstrado vantagens na anestesia de cães como a redução no requerimento de anestésico inalatório durante a manutenção anestésica em até 70% (Monteiro et al., 2010), maior estabilidade cardiovascular durante a anestesia em relação ao uso isolado do halogenado (Ilkiw et al., 1994), redução na resposta neuroendócrina ao estímulo nociceptivo, além de proporcionar analgesia residual, garantindo o controle da dor pós-operatória (Mastrocinque e Fantoni, 2003).

A morfina é considerada o protótipo dos analgésicos opioides (Lowenstein, 1971; Duarte, 2005). Apesar de ser um analgésico de uso frequente em cadelas

anestesiadas para realização de OHE, esse fármaco na dose intravenosa de 0,2 mg/kg, não foi capaz de abolir o aumento no cortisol em resposta ao estímulo cirúrgico (Mastrocinque e Fantoni, 2003). Adicionalmente, a experiência clínica demonstra que as doses de morfina tradicionalmente empregadas não são capazes de abolir a resposta cardiovascular frente ao estímulo cirúrgico na OHE. No entanto, há carência de estudos na literatura sobre a capacidade desse opioide em inibir a elevação da frequência cardíaca e da pressão arterial em resposta ao estímulo cirúrgico durante a OHE.

Para a comparação dos efeitos cardiovasculares promovidos por determinado halogenado e a sua associação a um agente analgésico é importante que sejam empregadas concentrações equipotentes dos anestésicos inalatórios, ou seja, concentrações que resultam em uma mesma profundidade anestésica (Monteiro et al., 2010). Para isso, é necessário primeiramente conhecer a concentração alveolar mínima (CAM) do halogenado, na ausência e na presença de cada fármaco associado na técnica anestésica, para que sejam estabelecidas as concentrações equipotentes.

Assim como ocorre com outros opioides fortes, a administração da morfina demonstrou reduzir a CAM dos anestésicos inalatórios de maneira dose dependente (Murphy e Hug, Jr, 1982). Entretanto, a maior parte dos estudos nos quais o efeito redutor sobre a CAM pela morfina foi avaliado foram realizados com a administração do opioide pela via intravenosa (Murphy e Hug, Jr, 1982; Ko et al., 2009). Como na rotina clínica de cães este opioide é empregado mais frequentemente pela via intramuscular, não é possível afirmar que, nessas condições, o efeito redutor sobre a CAM pela morfina seja o mesmo relatado após a administração intravenosa. Por essa razão, são necessários estudos para avaliar a relação entre diferentes doses de morfina intramuscular e seus efeitos sobre a CAM dos halogenados contemporâneos. Esse conhecimento permitirá a comparação dos efeitos adversos observados durante a anestesia com a associação desse opioide a um halogenado, com o uso do halogenado isoladamente e também com a associação de outros opioides ao anestésico inalatório.

REVISÃO DE LITERATURA

Anestesia Inalatória

O método da anestesia inalatória, em que uma substância é absorvida por via respiratória produzindo anestesia geral, começou a ser utilizada no século XX com a descoberta do óxido nitroso e de suas propriedades analgésicas (Steffey e Mama, 2007).

A anestesia inalatória vem sendo cada vez mais empregada na medicina veterinária, principalmente nos últimos 20 anos. Os agentes mais utilizados na rotina veterinária são isoflurano, sevoflurano e halotano (Steffey e Mama, 2007). A preferência pela utilização dos agentes halogenados se dá devido a muitas características benéficas, tais como, a administração concomitante de oxigênio, que auxilia no suporte respiratório ao paciente e melhora a oxigenação arterial; facilidade de ajuste do plano anestésico; baixa biotransformação hepática já que a eliminação do fármaco ocorre principalmente através da via respiratória, sem causar acúmulo do fármaco no organismo; rápida recuperação anestésica e custo acessível (Steffey e Mama, 2007). Entretanto, o uso de agentes halogenados não garante analgesia durante sua administração, apenas inconsciência (Wouden e Miller, 2001). Além disso, a depressão dos sistemas cardiovascular e respiratório podem levar a consequências graves e até mesmo ao óbito (Wouden e Miller, 2001; Steffey e Mama, 2007). Para manter um paciente em plano moderado de anestesia, adequado a maioria dos procedimentos cirúrgicos, sem haver respostas ao estímulo nociceptivo, a vaporização e a concentração expirada dos agentes halogenados são elevadas. Dessa forma, os efeitos colaterais indesejáveis desses anestésicos são exacerbados (Steffey e Mama, 2007).

Isoflurano

O isoflurano é um agente inalatório halogenado com mesma fórmula molecular que o enflurano, porém com propriedades químicas diferentes, principalmente em relação à potência e biotransformação (Steffey e Mama, 2007). Esse é o anestésico inalatório mais utilizado na rotina veterinária. Foi criado por Dalton Terrel em 1965 por necessidade de encontrar um fármaco que causasse

menos efeitos colaterais que os agentes inalatórios halotano e metoxiflurano existentes na época (Massone, 2003).

Após absorção pela via respiratória, o isoflurano causa rapidamente inconsciência devido à depressão do sistema nervoso central (SNC). A velocidade de ação está relacionada ao baixo coeficiente de solubilidade ou coeficiente de partição sangue/gás, ou seja, a capacidade do gás ser distribuído entre o estado gasoso e o sangue (Steffey e Mama, 2007; Wouden e Miller, 2001). O coeficiente de partição óleo/gás define a potência do anestésico (quanto maior, mais potente), ao passo que o coeficiente de partição sangue/gás define a velocidade de indução e recuperação da anestesia (quanto menor, mais rápido). O coeficiente de partição sangue/gás do isoflurano é de 1,4, promovendo indução e recuperação mais rápidas que o halotano que possui coeficiente de 2,3, porém mais lenta que e o sevofluano com 0,65. Em relação à potência, o halotano é o agente em que mais destaca-se com o coeficiente de partição solvente/óleo de 224 e o isoflurano ocupa a segunda colocação com coeficiente de partição solvente/óleo de 98 (Wouden e Miller, 2001).

A biotransformação e eliminação desse agente anestésico ocorrem através do sistema respiratório, havendo baixa biotransformação e interferência hepática e/ou renal (Steffey e Mama, 2007).

Apresenta ação depressora dose dependente no sistema cardiovascular, principalmente devido à capacidade de reduzir a resistência vascular sistêmica (RVS), o que gera a conseqüente redução da pressão arterial (PA) (Pagel et al., 1991). Entretanto, em estudo anterior avaliando o isoflurano em diferentes múltiplos da CAM, Steffey & Howland (1977) relataram que em concentrações até 2,0 CAM não houve influencia sobre o débito cardíaco (DC) já que a frequência cardíaca mantem-se elevada.

Concentração Alveolar Mínima

A CAM foi descrita pela primeira vez em 1963 em um estudo realizado por Merkel e Eger. Ao estudar os efeitos dos anestésicos inalatórios halotano e halopropano em cães, os autores concluíram que a CAM poderia ser usada como um índice para comparar potências anestésicas dos anestésicos inalatórios. A CAM foi definida como a concentração alveolar mínima de um anestésico presente nos

alvéolos, a uma atmosfera de pressão, capaz de manter 50% da população estudada imóvel diante de um estímulo nociceptivo supramáximo. Assim, 1 CAM é considerada a dose efetiva em 50% dos indivíduos (DE_{50}), o que caracteriza plano superficial de anestesia, enquanto que múltiplos de 1,2 a 1,4 vezes a CAM correspondem à DE_{95} , a dose efetiva em 95% dos indivíduos, a qual proporciona plano moderado de anestesia na maioria dos pacientes testados (Steffey e Mama, 2007). Além de apresentar fator preditivo em relação à profundidade anestésica, a CAM ainda tem grande importância para classificar a potência de outros agentes adjuvantes da anestesia de acordo com suas capacidades de reduzirem a CAM (Quasha et al., 1980).

Para a determinação da CAM, existem alguns princípios básicos que devem ser seguidos, tais como, estabelecer um estímulo nociceptivo supramáximo, estabelecer um padrão de avaliação da resposta motora frente ao estímulo nociceptivo aplicado e respeitar o tempo de equilíbrio entre as concentrações anestésicas presentes nos alvéolos, no sangue arterial e no SNC (Quasha et al., 1980).

A determinação da CAM envolve aplicar um estímulo nociceptivo e a avaliação da resposta do indivíduo frente a este. A maioria dos estudos de determinação da CAM utilizam estímulos nociceptivos considerados supramáximos, ou seja, estímulos cujo aumento na intensidade não resultaram em incremento na dor provocada por estes (Eger et al., 1965). Independente da natureza do estímulo empregado (elétrico ou mecânico) são esperados valores similares de CAM quando diferentes estímulos supramáximos são aplicados em uma mesma espécie. Em estudo anterior, o pinçamento de cauda e o estímulo elétrico com 50 volts foram considerados estímulos nociceptivos supramáximos em coelhos e cães, resultando em valores de CAM que não diferiram significativamente (Valverde et al., 2003). Em contrapartida, quando são utilizados estímulos nociceptivos considerados submáximos, o incremento na intensidade do estímulo resulta em aumento na dor (Quasha et al., 1980; Eger et al., 1965) e estímulos de intensidades variadas resultarão em valores diferentes de CAM (Valverde et al., 2003). Os estímulos nociceptivos supramáximos mais comumente empregados para a determinação da CAM na medicina veterinária são o pinçamento de cauda e o estímulo elétrico, este último aplicado em membros ou na mucosa oral. Na medicina humana, a incisão de pele é o estímulo supramáximo mais frequentemente empregado (Quasha et al.,

1980) enquanto que, em cães, este estímulo é considerado submáximo (Valverde et al., 2003).

A resposta ao estímulo deve ser avaliada quanto à capacidade motora, ou seja, de acordo com o tipo de movimento apresentado, considera-se que tenha ocorrido de forma consciente ou não. Por isso, a resposta motora é classificada como positiva quando há movimentos voluntários grosseiros de pedalagem com os membros torácicos e/ou pélvicos, de cabeça e/ou tronco. Por outro lado, movimentos de deglutição, mastigação, taquicardia, taquipnéia, espasmos musculares e movimentos leves involuntários nos membros são sinais que se enquadram como resposta negativa (Quasha et al., 1980).

Para que se determinem valores confiáveis da CAM, antes de ser efetuado o estímulo nociceptivo, deve-se manter a concentração expirada do anestésico volátil estudado na concentração que se deseja estudar durante tempo suficiente para esta atingir o equilíbrio entre os alvéolos, o sangue arterial e o SNC (Quasha et al., 1980; Steffey e Mama, 2007). Para os anestésicos halogenados, um tempo mínimo de 15 minutos vem sendo relatado como suficiente para atingir esse equilíbrio (Quasha et al., 1980; Valverde et al., 2003; Aguado et al., 2010; Monteiro et al., 2010).

No método tradicional de determinação da CAM, o estímulo nociceptivo é aplicado após o período de equilíbrio (15 minutos) em uma concentração anestésica expirada inicial. Em caso de resposta motora positiva, a concentração expirada do anestésico volátil estudado é aumentada em 0,1-0,2% e, após se atingir um novo equilíbrio na nova concentração, o estímulo nociceptivo é repetido. Esse processo é repetido até que ocorra uma resposta negativa. A CAM de cada indivíduo é então calculada através da média aritmética entre a maior concentração que permite movimento e a menor concentração que inibe a resposta motora frente a estímulos nociceptivos, com diferença de 0,1% entre as concentrações (Quasha et al., 1980).

No método “up-and-down” de Dixon (1965), a determinação da CAM é realizada de forma quantal, na qual todas as respostas avaliadas são consideradas para o cálculo da CAM, através de fórmulas específicas para determinar a DE_{50} , a qual corresponde ao valor da CAM. A técnica “up-and-down” envolve a modificação na concentração anestésica a ser usada no paciente seguinte a partir da resposta do paciente anterior. No caso de resposta motora positiva, a concentração expirada do anestésico é aumentada em 0,1% para o paciente seguinte, o contrário ocorrendo

em caso de resposta negativa (Dixon, 1965). Assim, formavam-se pares de animais: um com resposta motora positiva e outro com resposta negativa consecutivamente ou vice-versa. Baseado neste estudo foi sugerido em estudos recentes uma forma alternativa e simplificada para o cálculo do valor da CAM em humanos e em animais (Valverde et al., 2003; Aguado et al., 2010). Com base no estímulo incisivo ao invés de utilizar a avaliação quantal dos valores determinados em cada animal, sugeriu-se determinar a CAM através da média aritmética dos pares de animais formados, sendo que o mesmo animal não pode participar de mais de um par (Paul e Fisher, 2001).

Além dos requisitos essenciais à determinação da CAM, outros fatores podem interferir no seu valor (Quasha et al., 1980): diferenças no ritmo circadiano podem resultar em alteração de até 10% na CAM quando um mesmo indivíduo é estudado em horários diferentes do dia (Eger et al., 1965); alterações na pressão parcial de dióxido de carbono (P_{aCO_2}) entre 15 a 95 mmHg não afetam a CAM do halotano em cães, entretanto casos de hipercapnia com alteração concomitante no pH do líquido cerebrospinal podem causar redução da CAM e, quando presente em níveis que reduzem o pH a 7,10, pode causar estado narcótico (Eisele et al., 1967); a hipotensão é descrita como redutora da CAM do halotano em cães em casos de hemorragia ou de uso de fármacos vasoativos (Eger et al., 1965; Tanifuji e Eger, 1976); quadro hipertensivo não interfere com a CAM, no entanto o uso de substâncias como a epinefrina ou a menfentemina, que aumentam a pressão arterial, podem aumentar a CAM em até 50% (Eger et al., 1965; Steffey e Eger, 1975); a hipotermia interfere reduzindo a CAM. Foi relatado que a redução de 10°C causou redução de 50% na CAM do halotano em cães (Eger et al., 1965). Além disso, em um estudo anterior, foi relatado que, em temperaturas abaixo de 30°C, os animais apresentam estado narcótico (Callaghan et al., 1954); por outro lado, quadros de hipertermia acima de 37,3°C causaram aumento de 8% na CAM do halotano em cães para cada grau elevado (Steffey e Eger, 1974).

Opioides

O uso dos analgésicos opioides para o combate da dor é registrado desde os primórdios da civilização através da extração de alcaloides oferecidos pelo exsudato leitoso da planta *Papaver somniferum*, mais conhecida popularmente como papoula,

já que além da analgesia, causa sedação, redução de ansiedade e do estresse. Dentre os 20 alcaloides extraídos da papoula, apenas a morfina e a codeína possuem uso clínico, sendo que a morfina é considerada o protótipo dos analgésicos opioides, com a qual todos os demais são comparados (Lowenstein, 1971; Duarte, 2005; Lamont e Matheus, 2007).

A analgesia oferecida pelos fármacos opioides ocorre através da ligação a receptores específicos localizados no sistema nervoso central em nível supraespinhal e espinhal e ainda em sistema nervoso periférico (Fantoni e Mastrocinque, 2002). Os receptores opioides e seus efeitos são: receptor μ (mi): analgesia, depressão respiratória, euforia e dependência física; receptor κ (kapa): analgesia, miose, sedação e disforia; receptor δ (delta): analgesia, depressão respiratória e redução da atividade gástrica (Lamont e Matheus, 2007). O grau de analgesia proporcionada pelo fármaco se dá através do tipo de interação fármaco-receptor, a dose, a via de administração e as diferentes características farmacocinéticas que ocorrem nas diferentes espécies (Lamont e Matheus, 2007).

Morfina

A morfina é o fármaco considerado padrão para o combate da dor. Após sua descoberta, muitos outros fármacos analgésicos opiáceos foram criados a partir de sua molécula. Entretanto, dentre todos os fármacos sinteticamente criados, nenhum é considerado mais eficaz do que a morfina no combate à dor. Os efeitos analgésicos proporcionados pela morfina resultam da sua ação agonista com grande afinidade junto aos receptores μ , discreta afinidade com os receptores κ e moderada afinidade aos receptores δ (Spinosa et al., 2011).

Para melhor efeito, a administração da morfina deve ser feita por via parenteral. Através das vias subcutânea (SC) e intramuscular (IM), o período de latência é curto e a curva de efeito máximo permanece durante um maior período de tempo (Spinosa et al., 2011). A administração por via intravenosa (IV) deve ser cuidadosa, já que a rápida administração por essa via resulta em liberação de histamina, acarretando vasodilatação significativa (Guedes et al., 2006; Spinosa et al., 2011). A administração por via extradural (epidural), intratecal (subaracnóidea), interpleural ou intra-articular também são opções eficientes para a utilização da

morfina no combate a dor (Lamont e Matheus, 2007). Quando comparada com os opioides sintéticos, como o fentanil, o butorfanol ou a metadona, a morfina é relativamente hidrofílica e atravessa a barreira hemato-encefálica mais lentamente, tendo um pico de efeito mais tardio que quando administrado por via intravenosa. Quando administrada por via peridural, a baixa solubilidade permite produzir analgesia de longa duração, podendo persistir de 12 a 24 horas em cães (Andersen et al., 1986; Lamont e Matheus, 2007).

Lucas et al. (2001) demonstraram, em seus estudos com cães, que a administração de morfina através de infusão intravenosa contínua, na dose de 0,12 mg/kg/h, induz a efeitos analgésicos semelhantes aos promovidos com a administração por via intramuscular na dose de 1 mg/kg. A morfina também pode ser absorvida pelo trato gastrointestinal quando administrada por via oral e, por esta via de administração, a primeira passagem de biotransformação ocorre no fígado para posteriormente atingir a circulação sistêmica, o que reduz seu efeito, assim esta via de administração não é recomendada (Nakamura et al., 2007; Spinosa et al., 2011). A administração de morfina por via retal não aumenta a biodisponibilidade e nem a concentração plasmática quando comparada a administração intramuscular ou intravenosa em cães, limitando sua aplicação clínica (Barnhart et al., 2000).

Passado o processo de absorção, a morfina é distribuída para os tecidos, especialmente atingindo o SNC, fígado, rins, pulmões e músculos (Spinosa et al., 2011). Na maioria das espécies, a via metabólica da morfina ocorre no sistema microsomal hepático e envolve a conjugação com o ácido glicurônico, levando à formação de dois metabólitos principais: a morfina 6-glicuronídeo (com capacidade analgésica devido à ação direta sobre receptores μ) e morfina 3-glicuronídeo (Lamont e Matheus, 2007). Estes são eliminados quase que totalmente através de filtração glomerular, ficando cerca de 7 a 10% dos metabólitos a serem eliminados através das fezes (Lamont e Matheus, 2007; Spinosa et al., 2011).

Efeitos sobre a CAM

A determinação da CAM de um agente halogenado pode ser uma forma de avaliar a eficiência analgésica dos fármacos que estiverem associados no protocolo anestésico utilizado (Docquier et al., 2003). Estudos anteriores demonstraram a

eficiência analgésica do uso da morfina pela alta redução da CAM encontrada. A redução de 35% e 43% da CAM do halotano foi observada em cães, após a administração de 0,1 mg/kg de morfina por via epidural diluída salina até um volume de 0,26 mL/kg (Valverde et al., 1989). Em outro estudo, a administração da morfina (1mg/kg, IV) causou redução de 35% sobre a concentração alveolar mínima do isoflurano (CAM_{ISO}) em cães (Ko et al., 2009).

Efeitos Hemodinâmicos

O uso de 1 mg/kg de morfina por via IV implicou em redução significativa da frequência cardíaca (FC) em até 26% em cães conscientes, se sustentando por 120 minutos (Maiante et al., 2008). Nesse mesmo estudo, os efeitos da morfina sobre o índice cardíaco (IC) e PA foram mínimos. Em outro estudo, a administração desse opioide (1 mg/kg, IV) não causou efeitos significativos sobre a pressão arterial e a frequência cardíaca em cães anestesiados com isoflurano em concentração de 0,8% (Ko et al., 2009). Por outro lado, durante a anestesia com isoflurano em concentração expirada de 1,8% em animais da mesma espécie, a administração intravenosa de 0,5 mg/kg de morfina causou redução de aproximadamente 20% na FC e de 10-15% nos valores de pressão arterial média e sistólica (Henao-Guerrero et al., 2009).

OBJETIVOS

Gerais

O presente estudo teve como objetivo determinar o efeito da utilização de duas doses de morfina (0,5 ou 1,0 mg/kg), administradas por via intramuscular, sobre a CAM_{ISO} em cadelas submetidas com base na resposta ao estímulo incisivo da OHE eletiva (capítulo 1). Baseado nos valores de CAM_{ISO} determinados na primeira etapa do estudo, objetivou-se avaliar o efeito das duas doses de morfina sobre a resposta cardiovascular e neuroendócrina ao estímulo cirúrgico e a dor pós-operatória em cadelas submetidas à OHE em plano anestésico equipotente (capítulo 2).

Específicos

Determinar clinicamente o efeito potencializador da anestesia com isoflurano promovido através de duas doses de morfina, administradas por via intramuscular, em cadelas submetidas à OHE.

Estudar o efeito de duas doses de morfina, administradas por via intramuscular, sobre a resposta cardiovascular (aumento da FC e PA) desencadeada pela OHE em cadelas anestesiadas com isoflurano.

Avaliar se a administração de duas diferentes doses de morfina pode inibir o aumento das concentrações plasmáticas de glicose e cortisol frente ao estímulo cirúrgico de OHE em cadelas.

Avaliar o efeito de duas diferentes doses de morfina sobre a dor pós-operatória em cadelas submetidas à OHE.

HIPÓTESES

No primeiro capítulo do presente estudo, construiu-se a hipótese que a administração da morfina através da via intramuscular reduziria a CAM_{150} em cães de forma dose dependente.

No segundo capítulo construiu-se a hipótese que a utilização de duas diferentes doses de morfina (0,5 e 1,0 mg/kg) administradas por via intramuscular reduziriam a resposta cardiovascular e neuroendócrina ao estímulo cirúrgico e no controle da dor pós-operatória em cadelas submetidas à OHE, e que a maior dose seria mais eficaz do que a menor.

CAPÍTULO 1: DETERMINAÇÃO CLÍNICA DO EFEITO DA MORFINA INTRAMUSCULAR SOBRE A CONCENTRAÇÃO ALVEOLAR MÍNIMA DO ISOFLURANO (CAM_{ISO}) EM CADELAS SUBMETIDAS À OVARIOHISTERECTOMIA ELETIVA

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Vila Velha (CEUA - UVV), sob protocolo de número 195-2011. Todos os proprietários dos animais utilizados foram esclarecidos sobre o estudo e assinaram um termo de autorização.

Foram utilizadas 27 cadelas comprovadamente saudáveis através de exames físico e laboratoriais (hemograma e bioquímica sérica – ureia, creatinina, ALT, FA), com idades, raças e pesos variados, que foram agendadas para a realização de ovariohisterectomia eletiva no Hospital Veterinário “Prof. Ricardo Alexandre Hippler”. Os animais foram submetidos a jejum alimentar de 12 horas, sem restrição hídrica. Todos os animais foram admitidos na manhã do experimento e liberados no mesmo dia após a completa recuperação anestésica.

Delimitação Experimental

Os animais foram distribuídos de forma aleatória em três grupos experimentais. Nos grupos MOR_{0,5} e MOR_{1,0}, as cadelas receberam como medicação pré-anestésica (MPA) a administração IM de morfina¹, nas doses de 0,5 mg/kg e 1,0 mg/kg, respectivamente. Os animais do grupo controle não receberam MPA.

¹ (Sulfato de Morfina, Hipolabor Farmacêutica Ltda, Borges Sabará, MG)

Procedimento Experimental

A tricotomia para acesso venoso e do campo cirúrgico foram realizadas antes da administração da MPA. Subsequentemente, os animais receberam a administração do tratamento experimental (grupos MOR_{0,5} e MOR_{1,0}) e, após 10 minutos, um cateter foi introduzido na veia cefálica para administração de fluidoterapia com solução de Ringer com lactato² em velocidade de 10 mL/kg/h. Todos os animais receberam antibioticoterapia profilática com cefazolina³ na dose de 30 mg/kg, por via intravenosa, antes da indução anestésica.

A indução anestésica foi realizada 15 minutos após a MPA com o uso de propofol⁴, administrado lentamente (1 mg/kg a cada 20 segundos, IV) até que fosse possível observar rotação do globo ocular, ausência de reflexos interdigital e palpebral e o relaxamento de mandíbula, possibilitando assim a intubação orotraqueal utilizando uma sonda com cuff adequada ao tamanho do animal.

Os animais foram posicionados em decúbito dorsal sobre um colchão térmico elétrico, a sonda endotraqueal foi conectada a um circuito circular valvular e a manutenção da anestesia foi realizada com isoflurano diluído em 1,5 a 2,0 L/minuto de oxigênio, administrado por um vaporizador calibrado⁵

A ventilação mecânica foi instituída com pressão inspiratória de 10 a 15 cm H₂O e a frequência respiratória (FR) ajustada de forma a manter a concentração expirada de dióxido de carbono (Et_{CO2}) entre 30 e 35 mmHg.

A concentração expirada de isoflurano (Et_{ISO}) e a Et_{CO2} foram mensuradas através de um analisador de gases infravermelho que recolhia amostras através de um intermediário acoplado na extremidade distal da sonda endotraqueal. Em todos os grupos estudados, cada animal permaneceu primeiramente a uma Et_{ISO} de 1,8%, durante 10 minutos para instrumentação e subsequentemente a concentração de isoflurano foi ajustada para a Et_{ISO} alvo de cada grupo. As pressões arteriais sistólica (PAS), diastólica (PAD) e média (PAM) foram mensuradas através do método oscilométrico, com o posicionamento de um manguito na região distal do rádio/ulna.

² Fresenius Kabi Brasil Ltda, Barueri, SP

³ Fazolon®, Ariston Indústrias Químicas e Farmacêuticas Ltda, Jardim Arpoador, SP

⁴ Fresofol 1%, Fresenius Kabi Brasil Ltda, Campinas, SP

⁵ Vaporizador Calibrado Isoflurano – Uso Veterinário, Oxigel, São Paulo, SP

Para cada animal foi selecionado um manguito que apresentasse largura de aproximadamente 40 a 50% da circunferência do membro torácico do animal. A frequência e o ritmo cardíaco foram avaliados com o uso do eletrocardiograma em derivação DII. A temperatura corporal foi mensurada através de um sensor trans-esofágico em posição torácica.

Determinação da CAM_{ISO}

A determinação da CAM_{ISO} realizada no presente estudo foi baseada no método “up-and-down” relatado por Dixon (1965). De acordo com este método, a determinação CAM é realizada através da avaliação da resposta motora do paciente frente a um estímulo nociceptivo, sendo que cada paciente é submetido uma única vez à estimulação nociceptiva.

No presente estudo, o estímulo nociceptivo constou na fixação do campo operatório com quatro pinças Bakhaus, incisão cirúrgica da pele e divulsão do tecido subcutâneo.

A resposta foi considerada positiva quando foram observados movimentos voluntários grosseiros, caracterizados por movimentos da cabeça ou tronco e movimentos de pedalagem dos membros torácico e/ou pélvico. Alterações do padrão respiratório, movimentos de deglutição e aumentos na frequência cardíaca e pressão arterial não foram consideradas respostas positivas. Nos casos em que estes sinais apresentaram-se ainda antes do momento da incisão a resposta foi considerada positiva e não era necessário realizar a incisão para a avaliação. As avaliações das respostas foram realizadas sempre pelo mesmo observador.

Após o período de instrumentação, a Et_{ISO} foi reduzida para a concentração alvo a ser testada. O valor da Et_{ISO} para o primeiro animal de cada grupo foi padronizada em 0,8% para os grupos MOR_{0,5} e MOR_{1,0} e de 1,3% para o grupo Controle. O estímulo nociceptivo somente era realizado 15 minutos depois de atingida a Et_{ISO} alvo, para garantir o equilíbrio do isoflurano entre as concentrações alveolar, sangue arterial e SNC.

A partir da resposta obtida para cada animal, a Et_{ISO} para o animal seguinte era ajustada. Em caso de resposta negativa, a Et_{ISO} a ser testada no próximo animal

era reduzida em 0,1%. Nos casos em que foram observadas respostas positivas, a Et_{ISO} a ser testada no animal seguinte era elevada em 0,1%. Em cada grupo, foram incluídas cadelas até que fossem obtidos 4 pares de animais, sendo que cada par consistia de dois animais nos quais foram observadas sequencialmente respostas negativa e positiva (ou vice-versa), e que um mesmo animal não poderia participar de mais de um par.

Após a avaliação da resposta, foi administrada cetamina-S⁶ (0,6 mg/kg) e meloxicam⁷ (0,2 mg/kg) por via intravenosa, e a Et_{ISO} foi ajustada de acordo com a necessidade para manter o animal em plano anestésico adequado, permitindo a continuação do procedimento cirúrgico. Após o final da cirurgia, o fornecimento de isoflurano foi interrompido para permitir a recuperação da anestesia.

Registro das variáveis mensuradas

Para cada animal, os valores de FC, PAS, PAM, PAD, Et_{CO_2} e temperatura esofágica foram registrados imediatamente antes da estimulação nociceptiva, após o período de equilíbrio (15 minutos) na Et_{ISO} alvo⁸. Foram registrados os intervalos de tempos decorridos da MPA à indução da anestesia, da indução ao estímulo nociceptivo, a duração da anestesia e da cirurgia.

Análise estatística

Os dados de todas as variáveis foram verificados quanto à distribuição normal pelo teste de Shapiro-Wilk.

Os valores médios e desvios-padrão de FC, PAS, PAM e PAD apresentados foram obtidos dos quatro pares de animais em cada grupo, enquanto os valores de peso, idade, temperatura, Et_{CO_2} , tempos registrados e a dose de propofol representam as médias e desvios-padrão de todos os animais em cada grupo.

Diferenças entre os grupos MOR_{0,5} e MOR_{1,0} no tempo decorrido da MPA à indução foram analisadas pelo teste t não pareado. Diferenças entre os três grupos

⁶ Ketamin S(+), Cristália – Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda, Itapira, SP

⁷ (Maxicam 0,2%, Ourofino Saúde Animal Ltda, Cravinhos, SP

⁸ Digicare Biomedical Technology LifeWindow 6000, Boynton Beach, Florida, EUA

nos demais tempos registrados, peso, variáveis cardiovasculares, Et_{CO_2} e temperatura foram analisadas pela Análise de Variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey. Para comparações entre grupos nos valores da dose de propofol e idade das cadelas, foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis e o teste de Dunn.

O valor da CAM_{ISO} em cada grupo foi calculado pela média aritmética da Et_{ISO} obtida dos quatro pares de animais. A CAM_{ISO} também foi calculada utilizando a análise quantal, considerando os valores da Et_{ISO} e respostas motoras de todos os animais em cada grupo de acordo com a fórmula:

$$P(X) = 1 / [1 + (ED_{50} / x)^n]$$

na qual $P(x)$ é a probabilidade de não movimento, "x" é a Et_{ISO} testada, "n" é a inclinação da reta e ED_{50} é o valor da CAM_{ISO} (Sonner, 2002).

Para comparações entre os grupos na CAM_{ISO} , os valores da Et_{ISO} obtidas dos quatro pares de animais foram comparadas pela ANOVA seguida pelo teste de Tukey. Para todas as análises, as diferenças foram consideradas significativas quando $P < 0,05$.

RESULTADOS

Para a obtenção de 4 pares de animais foram utilizadas 10 cadelas no grupo MOR_{0,5}, 8 no grupo MOR_{1,0} e 9 no grupo controle. As raças, pesos e idades estão representadas na tabela 01.

Tabela 01: Identificação demográfica de 27 cadelas usadas na determinação da concentração alveolar mínima do isoflurano. Os animais receberam como medicação pré-anestésica 0,5 mg/kg de morfina (grupo MOR_{0,5}, n=10), 1,0mg/kg de morfina (grupo MOR_{1,0}, n=8) ou não receberam medicação pré-anestésica (grupo Controle, n=9). Os pesos são representados por média e desvios padrão e as idades são apresentados como medianas (intervalo interquartil).

	Controle	MOR_{0,5}	MOR_{1,0}
Raças (n)	SRD (7), Pastor Alemão (1), Basset (1)	SRD (8), Basset (1), Shih-Tzu (1)	SRD (7), Basset (1)
Peso (kg)	12 ± 5	10 ± 4	13 ± 2
Idade (meses)	24 (9 – 54)	18 (11 – 34)	12 (12 – 48)

Os intervalos dos tempos decorridos da MPA à indução e da indução a aplicação do estímulo cirúrgico não diferiram significativamente entre os grupos. A duração da anestesia e de cirurgia também não foram significativamente diferentes. A dose de propofol utilizada para a indução anestésica foi significativamente maior no grupo Controle em relação aos grupos MOR_{0,5} e MOR_{1,0}, com redução de 14% e 26%, respectivamente (tabela 02).

Dentre todas as variáveis cardiovasculares avaliadas, apenas a FC e a PAM demonstraram diferenças significativas entre os grupos. Os valores de FC obtidos nos grupos MOR_{0,5} e MOR_{1,0} foram similares entre si e menores que os do grupo Controle. A PAM demonstrou-se significativamente menor no grupo MOR_{1,0} em relação ao grupo MOR_{0,5} (tabela 03), embora não tenham se diferenciado do grupo controle.

A temperatura esofágica e a EtCO₂ não diferiram significativamente entre os grupos (tabela 03) e nem ao longo do tempo.

Tabela 02: Valores dos intervalos de tempo registrados e dose de propofol em 27 cadelas usadas na determinação da concentração alveolar mínima do isoflurano que receberam como medicação pré-anestésica 0,5 mg/kg de morfina (grupo MOR_{0,5}, n=10), 1,0 mg/kg de morfina (grupo MOR_{1,0}, n=8) ou que não receberam medicação pré-anestésica (grupo Controle, n=9). Os valores da dose de propofol são apresentados como medianas (intervalo interquartil) enquanto as demais variáveis são apresentadas como médias e desvios padrão.

	Controle	MOR_{0,5}	MOR_{1,0}
MPA a Indução (min)	-	16 ± 2	16 ± 1
Indução ao estímulo cirúrgico (min)	38 ± 3	36 ± 7	38 ± 5
Dose de propofol (mg/kg)	8,0 (7,4–8,7)	6,9 (5,2–7,0)*	5,9 (5,0–6,7)*
Duração da anestesia (min)	65 ± 8	69 ± 8	64 ± 5
Duração da cirurgia (min)	27 ± 7	36 ± 12	26 ± 6

MPA: medicação pré-anestésica; *: diferença significativa em relação ao Controle; ($P < 0,05$).

Durante a determinação da CAM foram obtidos 4 pares de animais em cada grupo estudado (figura 01). Os valores determinados demonstraram que a CAM_{ISO} foi significativamente menor nos grupos MOR_{0,5} ($P < 0,01$) e MOR_{1,0} ($P < 0,001$) do que no Controle, e significativamente menor no grupo MOR_{1,0} do que no MOR_{0,5} ($P < 0,05$), com uma redução de 19% no grupo MOR_{0,5} e de 33% no grupo MOR_{1,0} em relação ao grupo Controle (tabela 04, figura 01). Os valores da CAM obtidos através da resposta quantal para os grupos Controle, MOR_{0,5} e MOR_{1,0} são apresentados na figura 02 e tabela 04.

Tabela 03: Valores médios (\pm DP) da frequência cardíaca (FC), pressão arterial sistólica (PAS), diastólica (PAD) e pressão arterial média (PAM), temperatura esofágica e concentração expirada de dióxido de carbono (EtCO₂) em 27 cadelas usadas na determinação da concentração alveolar mínima do isoflurano que receberam como medicação pré-anestésica 0,5 mg/kg de morfina (grupo MOR_{0,5}, n=10), 1,0 mg/kg de morfina (grupo MOR_{1,0}, n=8) ou que não receberam medicação pré-anestésica (grupo Controle, n=9). Os dados das variáveis cardiovasculares são referentes aos quatro pares de animais que deram origem à CAM em cada grupo, enquanto os dados de ETCO₂ e temperatura (°C) são referentes a todos os animais incluídos em cada grupo.

	Controle	MOR_{0,5}	MOR_{1,0}
FC (bpm)	94 \pm 9	74 \pm 18*	59 \pm 10*
PAS (mmHg)	76 \pm 21	93 \pm 16	79 \pm 8
PAD (mmHg)	34 \pm 8	40 \pm 7	31 \pm 7
PAM (mmHg)	54 \pm 10	63 \pm 10	50 \pm 6 [†]
EtCO₂ (mmHg)	32 \pm 1	31 \pm 2	33 \pm 2
Temperatura (°C)	37,4 \pm 0,2	37,2 \pm 0,4	37,0 \pm 0,2

*: diferença significativa em relação ao Controle, †: diferença significativa em relação ao grupo MOR_{0,5} ($P < 0,05$).

Tabela 04: Valores da concentração alveolar mínima do isoflurano calculados através da média aritmética dos quatro pares de animais ou pela resposta quantal, baseado nas respostas de todos os animais. As cadelas receberam como medicação pré-anestésica 0,5 mg/kg de morfina (grupo MOR_{0,5}, n=10), 1,0 mg/kg de morfina (grupo MOR_{1,0}, n=8) ou que não receberam medicação pré-anestésica (grupo Controle, n=9).

	Média aritmética (\pmDP)	Resposta quantal
Controle	1,20 \pm 0,10%	1,15%
MOR_{0,5}	0,97 \pm 0,14%*	1,05%
MOR_{1,0}	0,80 \pm 0,07% ^{†*}	0,80%

*: diferença significativa em relação ao Controle, †: diferença significativa em relação ao grupo MOR_{0,5} ($P < 0,05$).

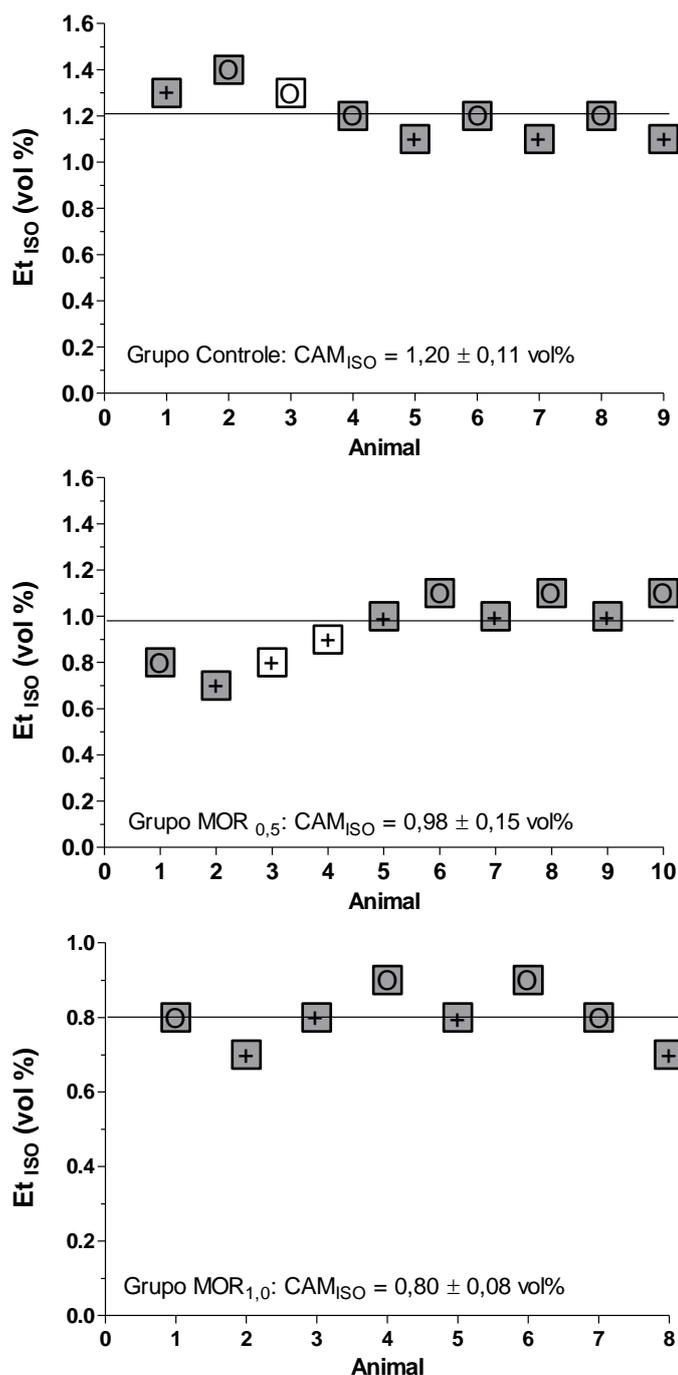


Figura 01: Respostas motoras individuais frente ao estímulo nociceptivo e respectivas concentrações expiradas de isoflurano (Et_{150}) em 27 cadelas. Os animais receberam como medicação pré-anestésica 0,5 mg/kg de morfina (grupo MOR_{0,5}, n=10), 1,0 mg/kg de morfina (grupo MOR_{1,0}, n=8) ou não receberam medicação pré-anestésica (grupo Controle, n=9). “O” representa resposta negativa e “+” representa resposta positiva. Os símbolos com realce em cinza representam a formação de um par e a linha horizontal representa a concentração alveolar mínima do isoflurano obtida pela média aritmética das Et_{150} dos pares.

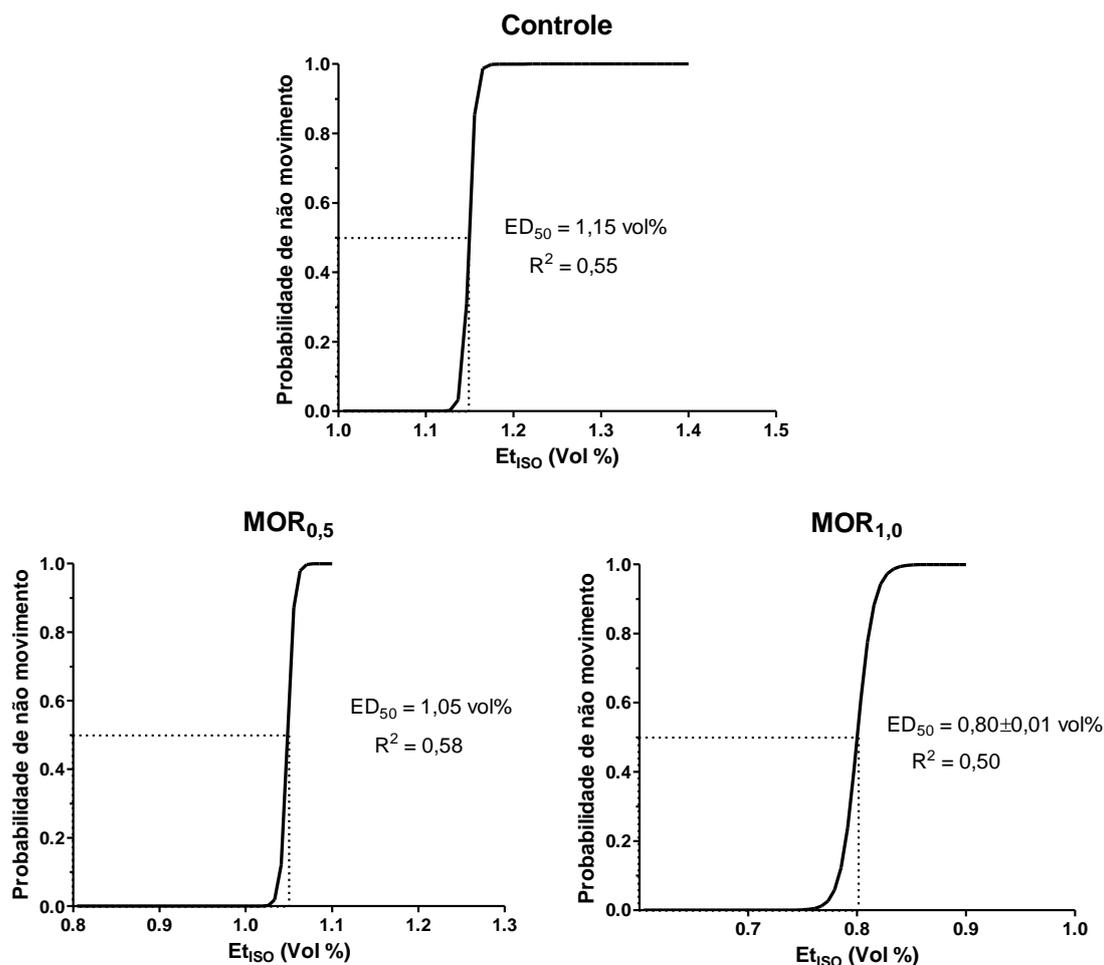


Figura 02: Curvas de análise quantal obtidas pelas respostas individuais de 27 cadelas frente ao estímulo nociceptivo nas respectivas concentrações anestésicas. Os animais receberam como medicação pré-anestésica 0,5 mg/kg de morfina (grupo MOR_{0,5}, n=10), 1,0 mg/kg de morfina (grupo MOR_{1,0}, n=8) ou não receberam medicação pré-anestésica (grupo Controle, n=9). Os valores da DE₅₀ (probabilidade de não movimento em 50% dos animais) correspondem à concentração alveolar mínima enquanto que, R² representa o coeficiente de determinação.

DISCUSSÃO

Para a determinação da CAM, alguns princípios devem ser seguidos a fim de evitar possíveis interferências, tais como a padronização do estímulo nociceptivo, definição da resposta motora e avaliação de concentrações anestésicas expiradas em equilíbrio (Quasha et al., 1980). No presente estudo, o mesmo cirurgião foi responsável por realizar a estimulação nociceptiva em todas as ocasiões, o mesmo observador avaliou todas as respostas motoras e, para todas as concentrações de isoflurano testadas, foi respeitado um período mínimo de 15 minutos para o equilíbrio entre a concentração do anestésico volátil no alvéolo, sangue arterial e no SNC (Quasha et al., 1980). Além disso, outros fatores que reconhecidamente podem interferir com o valor da CAM foram controlados: todos os procedimentos foram realizados pelo período da manhã, a fim de evitar influências do ritmo circadiano; os animais foram ventilados com 100% de oxigênio, a fim de evitar casos de hipoxemia ou hipercapnia severos; a temperatura corporal foi mantida em limites estreitos (Quasha et al., 1980).

Em um estudo anterior, os autores relataram que a recuperação total da anestesia em cães após a administração intravenosa da dose de 8 mg/kg de propofol ocorreu em aproximadamente 9 minutos (Sams et al., 2008). No presente estudo, o tempo médio entre o início da indução da anestesia com propofol até a aplicação do estímulo nociceptivo em todos os grupos avaliados foi acima de 30 minutos. Esses resultados sugerem que a influência do propofol sobre os valores de CAM determinados nesse estudo, se existente, pode ser considerada mínima.

A CAM_{ISO} encontrada no grupo Controle do presente estudo foi de $1,20 \pm 0,11\%$, uma diferença de aproximadamente 19% acima do valor encontrado em um estudo anterior ($1,01 \pm 0,07\%$), no qual a determinação da CAM_{ISO} também foi realizada utilizando como estímulo nociceptivo a incisão de pele em cães (Valverde et al., 2003). A diferença no valor da CAM_{ISO} encontrado nos dois estudos pode estar relacionado ao local da incisão. No presente estudo, a incisão de pele foi realizada sempre sobre a linha alba enquanto que, no estudo anterior, a incisão foi realizada na região da última costela ou da nona costela e a diferença no local de realização do estímulo pode ter influenciado os valores da CAM_{ISO} . Além disso, o estímulo nociceptivo empregado no presente estudo incluía, não somente a incisão

cirúrgica da pele, mas também a fixação do campo operatório através de quatro pinças Backhaus e a divulsão do tecido subcutâneo, os quais não foram utilizados no estudo anterior, podendo ter resultado em aumento na intensidade do estímulo nociceptivo e, conseqüentemente, no valor da CAM_{ISO}.

A administração intramuscular da morfina na MPA neste estudo causou redução significativa na CAM_{ISO} de 19% e 33% para os grupos MOR_{0,5} e MOR_{1,0}, respectivamente, quando comparado com os valores encontrados no grupo Controle. Adicionalmente, o efeito redutor sobre a CAM_{ISO} pela morfina foi dose dependente, conforme demonstrado pela redução adicional de 14% na CAM_{ISO} do grupo MOR_{1,0} em relação ao grupo MOR_{0,5}. Esses resultados corroboram os resultados de um estudo anterior no qual foi relatado que doses de morfina de 0,5; 1,5; 5 e 20 mg/kg acarretaram em redução na CAM do enflurano em cães de 17±3%, 32±7%, 63±3% e 67±3%, respectivamente (Murphy e Hug, Jr, 1982).

Além de serem dose-dependentes, a intensidade de redução na CAM_{ISO} pela morfina encontradas no presente estudo foram semelhantes às relatadas em estudos anteriores nos quais foi empregado estímulo nociceptivo supramáximo (Ko et al., 2009; Murphy e Hug, Jr, 1982). A administração intravenosa de morfina nas doses de 0,5 mg/kg e 1,0 mg/kg causaram, respectivamente, reduções de 17% na CAM do enflurano (Murphy e Hug, Jr, 1982) e de 34% na CAM do isoflurano em cães (Ko et al., 2009). Resultados similares foram encontrados para a redução na CAM_{ISO} durante a administração de infusões intravenosas contínuas de morfina, lidocaína e cetamina. Redução de 45% na CAM_{ISO} foi observada durante infusões de morfina, lidocaína e cetamina, independente se a CAM foi determinada empregando estímulo nociceptivo supramáximo (Muir et al., 2003) ou submáximo (Aguado et al., 2010). Esses resultados sugerem que, embora a intensidade do estímulo nociceptivo possa resultar em valores diferentes (em vol%) de CAM para os anestésicos inalatórios, a porcentagem de redução promovida por fármacos com propriedade analgésica ou hipnótica parece ser a mesma. Entretanto, pelo fato de haver algumas diferenças relatadas na metodologia entre os estudos, tais como o agente halogenado utilizado, a via de administração dos fármacos testados, a medicação pré-anestésica e o tempo decorrido da administração do analgésico à determinação da CAM, são necessários estudos futuros para esclarecer se a porcentagem de

redução sobre CAM por fármacos difere quando estímulos nociceptivos de intensidades diferentes são empregados.

Além do tipo de estímulo e da via de administração, outro fator que pode influenciar sobre a redução da CAM por analgésicos como a morfina é o tempo decorrido entre a administração do fármaco até a determinação da CAM, uma vez que as concentrações plasmáticas do fármaco se alteraram ao longo do tempo. No presente estudo, o tempo decorrido da administração da morfina até a realização da estimulação nociceptiva não diferiu entre os grupos (grupo MOR_{0,5}, 52 ± 7 minutos; grupo MOR_{1,0}, 55 ± 6 minutos). Adicionalmente, a literatura demonstra que o pico de concentração plasmática após a administração intramuscular da morfina ocorre na primeira hora após a administração (Lucas et al., 2001) e assim, pode-se sugerir que, no presente estudo, a determinação da CAM_{ISO} foi realizada próxima ao efeito máximo da morfina nos dois grupos que receberam este opioide.

De acordo com o método "up-and-down" de Dixon (1965), a porcentagem de animais que apresentaram respostas motoras positivas e negativas ao estímulo nociceptivo são representadas graficamente em relação às respectivas concentrações anestésicas em uma curva dose x resposta quantal, permitindo o cálculo da DE₅₀. Esta, por sua vez, corresponde à concentração que inibe a resposta motora em 50% da população, a qual equivale à CAM. No presente estudo, o valor da CAM foi calculado pelo método quantal (Sonner, 2002) e também pela média aritmética (Aguado et al., 2010) da ET_{ISO} de quatro pares de animais, resultando em valores similares de CAM com diferença inferior a 0,1 vol% entre os métodos. Resultados similares foram encontrados em estudo anterior, no qual as CAMs do halotano e do isoflurano foram calculadas pelos dois métodos em cães, resultando em valores idênticos (Valverde et al., 2003). Adicionalmente, em um estudo recente, o valor da CAM_{ISO} em cães foi calculado apenas baseado na média aritmética das concentrações provenientes de quatro pares de animais (Aguado et al., 2011).

A utilização de quatro pares de animais para os cálculos de determinação da CAM_{ISO} no presente estudo foi baseada no estudo de Paul e Fisher (2001), os quais a partir de simulações, relataram que o valor da CAM calculado a partir de quatro pares diferiu minimamente dos valores calculados a partir de 6 ou 10 pares de animais. Os autores também relataram que a utilização de 6 ou mais pares de animais reduz a ocorrência de valores aberrantes ("outliers"). Devido ao fato de, no

presente estudo, não terem sido identificados valores aberrantes em nenhum dos grupos e pelos baixos valores de desvios padrão nos três grupos, o número mínimo de quatro pares de animais foi considerado suficiente para a determinação da CAM_{ISO} .

Foi observado também, neste estudo, que a frequência cardíaca foi significativamente menor nos grupos $MOR_{0,5}$ (74 ± 18 bpm) e $MOR_{1,0}$ (59 ± 10 bpm) em relação ao grupo Controle (94 ± 9 bpm), com redução de 21% e 37%, respectivamente. Esses resultados podem ser explicados devido à ação da morfina, assim como outros opioides, sobre centros vagais medulares, resultando em redução na FC (Lamont e Mathews, 2007).

No presente estudo, os valores de PAM foram significativamente menores no grupo $MOR_{1,0}$ (50 ± 6 mm Hg) em relação ao grupo $MOR_{0,5}$ (63 ± 10 mm Hg). Esses resultados foram inesperados pelo fato dos animais do grupo $MOR_{0,5}$ terem sido submetidos a maiores concentrações de isoflurano, o qual causa redução dose-dependente da pressão arterial, principalmente devido à diminuição na RVS (Mutoh et al., 1997). Esses resultados podem ser explicados, pelo menos em parte, pelo fato dos valores de FC no grupo $MOR_{1,0}$ terem sido aproximadamente 20% menores em relação ao grupo $MOR_{0,5}$, embora essa diferença não tenha sido estatisticamente significativa. É possível que valores menores de FC tenham contribuído para a redução no DC dos animais do grupo $MOR_{1,0}$ e, conseqüentemente, resultado em valores menores de PAM (Stephenson, 1999) já que a pressão arterial é o produto do débito cardíaco (DC) pela resistência vascular sistêmica (RVS) de acordo com a fórmula: $PA = DC \times RVS$. O DC, por sua vez, é obtido através do produto entre o valor de FC e o volume sistólico (VS): $DC = FC \times VS$ (Stephenson, 1999). Sendo assim, reduções na FC podem resultar em diminuição no DC e, conseqüentemente, na PA. O fato do grupo $MOR_{0,5}$ ter sido o único que não apresentou hipotensão pode ser explicado devido à administração da morfina ter causado redução de 18% na CAM, diminuindo os efeitos do isoflurano sobre a função cardiovascular e, ao mesmo tempo, a dose de morfina nesse grupo não foi suficiente para reduzir os valores de FC abaixo dos limites de normalidade para a espécie. Outra explicação para a redução da PAM no grupo $MOR_{1,0}$ seria a possível ocorrência de liberação de histamina, que exerce função vasodilatadora devido a ação sobre os receptores β_1 e β_2 (Lamont e Mathews, 2007). Confirmando essa ocorrência, estudo anterior utilizou

as mesmas doses do presente estudo (0,5 e 1,0 mg/kg) e comparou as concentrações de histamina no plasma e os parâmetros cardiovasculares após à administração IV de morfina e de hidromorfona em cães e, com a administração da maior dose de morfina, um de cinco animais utilizados apresentou severa hipotensão e, ainda, foi possível observar contrações ventriculares prematuras. Além disso, a histamina plasmática medida após as doses inferiores e superiores, respectivamente, 10,2 e 9,7 ng/mL para a hidromorfona, e 440 e 589 ng/mL para a morfina (Guedes et al., 2007). Efeitos semelhantes foram observados em outro estudo anterior que avaliou a liberação de histamina utilizando diferentes doses de morfina (0,3 ou 0,6 mg/kg) administrada através de infusão contínua. Com a maior dose houve maior liberação de histamina, sendo que um de cinco dos animais utilizados apresentou hipotensão após 2 minutos do início da administração (Guedes et al., 2006). Dessa forma, os efeitos deletérios da liberação de histamina são referidos através da administração IV da morfina e, ainda, quando realizada de forma mais rápida, o que vai de encontro com administração realizada no presente estudo já que foi utilizada a via IM e assim, essa possibilidade parece ser reduzida já que em toda a literatura consultada não houve citações desse efeito através da administração IM.

CAPÍTULO 2: EFEITOS DA MORFINA INTRAMUSCULAR SOBRE AS RESPOSTAS CARDIOVASCULAR E NEUROENDÓCRINA E A DOR PÓS-OPERATÓRIA EM CADELAS ANESTESIADAS COM ISOFLURANO E SUBMETIDAS À OVARIOHISTERECTOMIA

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Vila Velha (CEUA - UVV), sob protocolo de número 195-2011. Todos os proprietários dos animais utilizados eram esclarecidos sobre o estudo e assinaram um termo de autorização.

Foram utilizadas 16 cadelas comprovadamente saudáveis através de exames físico e laboratoriais (hemograma e bioquímica sérica – uréia, creatinina, ALT, FA), com idades, raças e pesos variados, que foram agendadas para a realização de OHE eletiva no Hospital Veterinário “Prof. Ricardo Alexandre Hippler”. Os animais foram submetidos a jejum alimentar de 12 horas, sem restrição hídrica. Todos os animais foram admitidos na manhã do experimento e liberados no mesmo dia após 6 horas do fim da cirurgia quando as avaliações da pesquisa foram concluídas.

Delineamento e procedimento experimental

Os animais foram distribuídos de forma aleatória em dois grupos experimentais. Nos grupos MOR_{0,5} e MOR_{1,0} as cadelas receberam como MPA a administração intramuscular de morfina nas doses de 0,5 mg/kg ou 1,0 mg/kg, respectivamente.

Após a admissão no Hospital Veterinário, as cadelas foram alojadas em baias individuais onde permaneceram por 30 minutos para aclimação. Após, esse período, o preparo dos animais foi iniciado conforme o descrito no Capítulo 1: a tricotomia para acesso venoso e o procedimento cirúrgico foram realizadas e subsequentemente os animais recebiam a administração do tratamento experimental (grupos MOR_{0,5} e MOR_{1,0}). Decorridos 10 minutos, a indução da anestesia foi

realizada com propofol, os animais foram intubados e posicionados em decúbito dorsal sobre um colchão térmico elétrico. A sonda endotraqueal foi conectada a um circuito circular valvular e a manutenção da anestesia foi realizada com isoflurano diluído em oxigênio, administrado por um vaporizador calibrado. A ventilação artificial foi instituída de forma a manter a Et_{CO_2} entre 30 e 35 mmHg. Um analisador de gases infravermelho⁹ foi utilizado para monitorar a Et_{ISO} e a Et_{CO_2} .

Os animais tiveram um cateter 22 G introduzido na artéria femoral por punção percutânea. O cateter arterial foi conectado um sistema tubular rígido e um transdutor de pressão preenchidos com solução heparinizada (5 UI/mL) para permitir a visualização das ondas de pressão e valores de PAS, PAD e PAM na tela do monitor multiparamétrico⁹. Em cada animal, o transdutor de pressão foi nivelado e zerado à altura do coração, considerada como a altura da articulação escápulo-umeral. A FC e o ritmo cardíaco foram monitoradas por um monitor cardíaco, em derivação DII⁹.

Registro das variáveis e tempos registrados

A ocorrência de vômito após a administração dos tratamentos foi registrada e o grau de salivação apresentado pelo animal foi classificado em leve, moderado ou intenso.

Para cada animal, a Et_{ISO} foi ajustada em concentração equivalente a 2 CAM, baseando-se nos valores determinados no Capítulo 1. Assim, os valores da Et_{ISO} utilizados nos grupos MOR_{0,5} e MOR_{1,0} foram de 2,0% e 1,6%, respectivamente. Após um período mínimo de 15 minutos em Et_{ISO} estável, os valores basais das variáveis cardiorrespiratórias e temperatura esofágica foram mensurados (Basal). A seguir, o procedimento cirúrgico foi iniciado e a mensuração das variáveis foi repetida nos seguintes momentos cirúrgicos: após incisão de pele (Pele), após incisão da parede da musculatura abdominal (Parede), durante o pinçamento e a excisão dos pedículos ovarianos esquerdo (PE) e direito (PD), durante o pinçamento e excisão do coto uterino (Coto), após a sutura de parede abdominal (Sutura) e após a sutura de pele (Fim).

⁹ LifeWindow 6000 VET, Digicare Biomedical Technology, Boynton Beach, Florida, EUA

Amostras de sangue foram colhidas por punção percutânea da veia jugular para mensuração dos valores de glicemia e cortisol nos momentos Basal, Coto e duas horas após a extubação (2 horas). As amostras sanguíneas foram depositadas em tubos sem anticoagulante, destinado à mensuração de cortisol sérico e com o anticoagulante fluoreto de sódio para a mensuração da glicemia. Esses tubos permaneciam em caixa térmica refrigerada com gelo reciclável até o momento do processamento das amostras. As amostras para a determinação da glicemia foram centrifugadas a 313 x g e o plasma foi mantido sob refrigeração até a análise pelo método enzimático-colorimétrico, após um período máximo de 6 horas. As amostras destinadas à mensuração do cortisol foram centrifugadas a 2054 x g, durante 10 minutos, para obtenção do soro sanguíneo, o qual foi congelado a – 20°C até a análise pelo método de radioimunoensaio¹⁰.

Foram registrados os tempos decorridos da administração da MPA à indução anestésica, da indução anestésica ao início do procedimento cirúrgico, a duração da anestesia (da indução anestésica até o fim da administração de isoflurano), duração da cirurgia, o tempo até a extubação (da interrupção da administração do isoflurano até o retorno do reflexo de deglutição) e os tempos decorridos da extubação até o animal assumir o decúbito esternal e a posição quadrupedal.

Avaliação da dor e sedação pós-operatória

Em todas as ocasiões, a avaliação da dor foi realizada por um único observador que não participou do procedimento anestésico e desconhecia a qual grupo os animais pertenciam. Para a avaliação da dor, foram utilizadas a Escala Análoga Visual (EAV) e a Escala Composta de Dor de Glasgow (EGM) modificada (Murrell et al, 2008), enquanto que o grau de sedação foi avaliado somente pela EAV. A EAV consiste de uma linha contínua com 10 cm de comprimento, na qual o extremo esquerdo da linha representa ausência de dor ou ausência de sedação, enquanto que o extremo direito indica a maior dor ou a maior sedação possível. Em cada momento de avaliação, o observador deveria fazer uma marca sobre a linha, que correspondia ao grau de dor, e a distância da extremidade esquerda à marca, em cm, representa o escore da EAV. Para avaliação pela EGM, em um primeiro

¹⁰ kit Cortisol Coat-A-Count®, Siemens, Los Angeles, EUA.

momento, o avaliador observava o animal de fora do canil, sem nenhum tipo de interação, e em uma segunda etapa, o observador entrava no canil e interagia com o animal a fim de avaliar diversos comportamentos (figura 3). Diante de escores de dor acima de 3,5 pela escala EGM, foi realizado resgate analgésico com morfina na dose de 0,3 mg/kg por via intramuscular. Em todas as ocasiões, os escores de dor e sedação pela EAV foram avaliados antes dos escores de dor pela EGM.

As avaliações com as escalas EAV e EGM foram realizadas antes do procedimento cirúrgico, após um período de aclimatação de 30 minutos do animal no canil (Basal), e decorridas 1, 2, 3, 4, 5 e 6 horas da extubação. Após o período de avaliação, todos os animais receberam meloxicam (0,2 mg/kg, SC), para analgesia pós-operatória e em seguida receberam alta hospitalar.

Análise estatística

Os dados de todas as variáveis foram verificados quanto à distribuição normal pelo teste de Shapiro-Wilk.

Os valores das variáveis cardiovasculares, cortisol, Et_{CO2} e temperatura obtidos no período trans-operatório foram comparados entre os grupos por meio da ANOVA bifatorial seguida pela correção de Bonferroni. Dentro de cada grupo, as mesmas variáveis foram comparadas em relação ao momento basal por meio da ANOVA para amostras repetidas seguida pelo teste de Dunnet.

Diferenças entre os grupos no tempo decorrido da indução ao início da cirurgia, duração da cirurgia e da anestesia e tempos de recuperação foram comparadas por testes t não pareados. Comparações entre os grupos nos escores de dor, sedação, glicemia, tempo decorrido da MPA à indução e dose de propofol foram realizadas por meio do teste de Mann Whitney. Diferenças ao longo do tempo nos valores de glicemia, em relação ao basal, foram comparadas pelo teste de Friedman seguido pelo teste de Dunn.

Para todas as análises, foram consideradas diferenças significativas quando $P < 0,05$.

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

Figura 3: Representação da Escala Composta de Dor de Glasgow modificada, com os critérios de avaliação de comportamento do animal e suas respectivas pontuações (Murrell et al., 2008, traduzido por Daniela Campagnol).

RESULTADOS

Os dados demográficos referentes aos animais utilizados nos grupos MOR_{0,5} e MOR_{1,0} são apresentados na tabela 05.

Tabela 05: Identificação demográfica de 16 cadelas submetidas à ovariectomia (OHE) que receberam como medicação pré-anestésica 0,5 mg/kg (grupo MOR_{0,5}, n=8) ou 1,0mg/kg de morfina (grupo MOR_{1,0}, n=8). Os pesos são representados por médias e desvios padrão e as idades são apresentados como medianas (intervalo interquartil).

	MOR _{0,5}	MOR _{1,0}
Raças (n)	SRD (4), Poodle (2), Beagle (1), Yorkshire Terrier (1)	SRD (6), Golden Retriever (1), Fox Paulistinha (1)
Peso (kg)	10 ± 5	15 ± 9
Idade (meses)	17 (8 – 36)	24 (10 – 24)

No grupo MOR_{0,5}, sete dos oito animais apresentaram episódios de vômito após a administração da MPA e apenas um animal defecou. Já no grupo MOR_{1,0}, todos os oito animais apresentaram vômito e nenhum animal defecou.

Antes da indução, no grupo MOR_{0,5} um animal apresentou salivação leve, quatro com salivação moderada e três com salivação intensa, enquanto que no grupo MOR_{1,0}, foi observado dois animais com salivação leve, um com salivação moderada e cinco com salivação intensa.

Não houve diferenças significativas entre os grupos nos tempos decorridos da MPA à indução, da indução ao início da cirurgia, duração da cirurgia e da anestesia e na dose de propofol utilizada para a indução anestésica (tabela 06).

Durante o período trans-operatório, foi necessário elevar a Et_{ISO} em 2 animais tanto no grupo MOR_{0,5} quanto no grupo MOR_{1,0}. No grupo MOR_{0,5}, a Et_{ISO} máxima necessária foi de 2,2% em um animal e de 2,6% no outro animal. No grupo MOR_{1,0}, a Et_{ISO} máxima necessária foi de 1,8% nos dois animais em que não foi possível a realização do procedimento cirúrgico com a Et_{ISO} pré-determinada. Em todos os casos, a elevação na Et_{ISO} ocorreu durante os momentos PE, PD e/ou Coto.

No grupo MOR_{0,5}, três animais apresentaram o globo ocular rotacionado e 4 apresentaram o globo ocular centralizado do início ao fim da cirurgia. Um animal do mesmo grupo o globo ocular permaneceu rotacionado em alguns momentos e centralizado em outros. No grupo MOR_{1,0}, cinco animais apresentaram o globo ocular centralizado do início ao fim da cirurgia e 3 animais permaneceram com o globo ocular rotacionado durante todo o procedimento.

Tabela 06: Valores dos tempos registrados e dose de propofol em 16 cadelas submetidas à ovariectomia (OHE) que receberam na medicação pré-anestésica (MPA) 0,5 mg/kg (grupo MOR_{0,5}, n=8) ou 1,0 mg/kg de morfina (grupo MOR_{1,0}, n=8). A manutenção da anestesia foi realizada com isoflurano na concentração expirada de 2,0% (grupo MOR_{0,5}) ou 1,6% (grupo MOR_{1,0}). Os valores da dose de propofol são apresentados como medianas (intervalo interquartil) enquanto as demais variáveis são apresentadas como médias e desvios padrão.

	MOR _{0,5}	MOR _{1,0}
MPA à Indução (min)	16 ± 2	19 ± 9
Indução ao início da cirurgia (min)	30 ± 6	29 ± 5
Dose de propofol (mg/kg)	7,0 (6,4 – 7,00)	7,0 (5,3 – 7,0)
Duração da anestesia (min)	54 ± 7	54 ± 14
Duração da cirurgia (min)	30 ± 5	29 ± 10

Hipotensão (PAM < 60 mmHg) foi observada no momento basal em 5/8 e 6/8 cadelas nos grupos MOR_{0,5} e MOR_{1,0}, respectivamente. Em todos os casos, a hipotensão foi resolvida após o início da cirurgia (tabela 07).

Na avaliação entre os grupos, não houve diferença significativa nos valores de PAS, PAD, PAM, EtCO₂ e temperatura em nenhum dos momentos estudados. Valores significativamente maiores de FC foram observados no grupo MOR_{0,5} em relação ao grupo MOR_{1,0} do momento Pele até o momento Sutura, com exceção do momento PD (tabela 08).

Houve elevação significativa da FC no grupo MOR_{0,5} a partir da Pele até o Coto, enquanto que no grupo MOR_{1,0} o aumento significativo da FC se deu nos momentos PE, PD e Coto (tabela 08). No grupo MOR_{0,5}, a PAS, PAD e PAM se mantiveram significativamente mais elevadas durante todos os momentos cirúrgicos avaliados em relação ao momento Basal (tabela 08). No grupo MOR_{1,0}, a PAS, PAD e PAM foram significativamente maiores do que o Basal com exceção do momento Pele (tabela 08).

Não houve diferença significativa dentro de cada grupo nos valores de temperatura quando comparado com os valores basais, enquanto que na EtCO₂ houve elevação significativa em relação ao basal durante a sutura de pele no grupo MOR_{0,5} (tabela 09, figura 04).

Tabela 07: Número de animais e respectivas porcentagens de ocorrência de hipotensão nos momentos específicos em 16 cadelas submetidas à ovariectomia (OHE) que receberam na medicação pré-anestésica 0,5 mg/kg de morfina (grupo MOR_{0,5}, n=8) ou 1,0 mg/kg de morfina (grupo MOR_{1,0}, n=8). A manutenção da anestesia foi realizada com isoflurano na concentração expirada de 2,0% (grupo MOR_{0,5}) ou 1,6% (grupo MOR_{1,0}).

	Basal	Pele	Parede	PE	PD	Coto	Sutura	Fim
MOR_{0,5}	5 (63%)	3 (38%)	1 (13%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (13%)	2 (25%)
MOR_{1,0}	6 (75%)	3 (38%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

Basal: antes do início da cirurgia; Pele: após a incisão da pele e tecido subcutâneo; Parede: após a incisão da linha alba; PE: durante o pinçamento, excisão e ligadura do pedículo ovariano esquerdo; PD: durante o pinçamento, excisão e ligadura do pedículo ovariano direito; Coto: durante o pinçamento, excisão e ligadura do coto uterino; Sutura: após a sutura da parede abdominal; Fim: após a sutura da pele.

Tabela 08: Valores médios (\pm DP) da frequência cardíaca (FC) e pressões arteriais sistólica (PAS), média (PAM) e diastólica (PAD) avaliadas durante momentos cirúrgicos específicos em 16 cadelas submetidas à ovariectomia (OHE) que receberam na medicação pré-anestésica 0,5 mg/kg de morfina (grupo MOR_{0,5}, n=8) ou 1,0 mg/kg de morfina (grupo MOR_{1,0}, n=8). A manutenção da anestesia foi realizada com isoflurano na concentração expirada de 2,0% (grupo MOR_{0,5}) ou 1,6% (grupo MOR_{1,0}).

		Basal	Pele	Parede	PE	PD	Coto	Sutura	Fim
FC (bpm)	<i>MOR_{0,5}</i>	94 \pm	110 \pm	109 \pm	124 \pm	122 \pm	117 \pm	104 \pm	98 \pm
		11	12 ^{†*}	12 ^{†*}	12 ^{†*}	12 [*]	11 ^{†*}	14 [†]	10
	<i>MOR_{1,0}</i>	78 \pm	79 \pm	85 \pm	104 \pm	108 \pm	98 \pm	86 \pm	85 \pm
		9	11	9	15 [*]	12 [*]	9 [*]	8	12
PAS (mmHg)	<i>MOR_{0,5}</i>	78 \pm	95 \pm	102 \pm	132 \pm	130 \pm	121 \pm	101 \pm	97 \pm
		10	20 [*]	18 [*]	15 [*]	19 [*]	21 [*]	25 [*]	17 [*]
	<i>MOR_{1,0}</i>	80 \pm	93 \pm	104 \pm	151 \pm	151 \pm	141 \pm	123 \pm	115 \pm
		10	12 [*]	17 [*]	18 [*]	19 [*]	17 [*]	14 [*]	15 [*]
PAM (mmHg)	<i>MOR_{0,5}</i>	52 \pm	70 \pm	76 \pm	97 \pm	109 \pm	98 \pm	78 \pm	72 \pm
		9	17 [*]	15 [*]	37 [*]	19 [*]	20 [*]	26 [*]	19 [*]
	<i>MOR_{1,0}</i>	56 \pm	65 \pm	79 \pm	122 \pm	123 \pm	117 \pm	99 \pm	89 \pm
		6	10	16 [*]	14 [*]	13 [*]	16 [*]	13 [*]	12 [*]
PAD (mmHg)	<i>MOR_{0,5}</i>	41 \pm	59 \pm	64 \pm	95 \pm	95 \pm	88 \pm	66 \pm	61 \pm
		11	16 [*]	13 [*]	14 [*]	21 [*]	20 [*]	25 [*]	17 [*]
	<i>MOR_{1,0}</i>	46 \pm	58 \pm	68 \pm	108 \pm	112 \pm	106 \pm	87 \pm	79 \pm
		6	14	16 [*]	12 [*]	11 [*]	16 [*]	14 [*]	16 [*]

Basal: antes do início da cirurgia; Pele: após a incisão da pele e tecido subcutâneo; Parede: após a incisão da linha alba; PE: durante o pinçamento, excisão e ligadura do pedículo ovariano esquerdo; PD: durante o pinçamento, excisão e ligadura do pedículo ovariano direito; Coto: durante o pinçamento, excisão e ligadura do coto uterino; Sutura: após a sutura da parede abdominal; Fim: após a sutura da pele. *: diferença significativa em relação ao basal; †: diferença significativa entre grupos ($P < 0,05$).

Tabela 09: Valores médios (\pm DP) da temperatura esofágica (Temp) e concentração expirada de dióxido de carbono (Et_{CO_2}) avaliadas durante momentos cirúrgicos específicos em 16 cadelas que receberam na medicação pré-anestésica 0,5 mg/kg de morfina (grupo $MOR_{0,5}$, n=8) ou 1,0 mg/kg de morfina (grupo $MOR_{1,0}$, n=8). A manutenção da anestesia foi realizada com isoflurano na concentração expirada de 2,0% (grupo $MOR_{0,5}$) ou 1,6% (grupo $MOR_{1,0}$).

		Basal	Pele	Parede	PE	PD	Coto	Sutura	Fim
Temp (°C)	$MOR_{0,5}$	37 \pm	37 \pm	37 \pm	37 \pm	37,3 \pm	37 \pm	37 \pm	37 \pm
		0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4
	$MOR_{1,0}$	37 \pm	37 \pm						
		0,3	0,4	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2
Et_{CO_2} (mmHg)	$MOR_{0,5}$	32 \pm 1	33 \pm 2	32 \pm 2	33 \pm 2	33 \pm 2	33 \pm 2	34 \pm 1	34 \pm 2
	$MOR_{1,0}$	33 \pm 2	33 \pm 2	33 \pm 3	34 \pm 2	34 \pm 2	33 \pm 2	34 \pm 2*	33 \pm 2

Basal: antes do início da cirurgia; Pele: após a incisão da pele e tecido subcutâneo; Parede: após a incisão da linha alba; PE: durante o pinçamento, excisão e ligadura do pedículo ovariano esquerdo; PD: durante o pinçamento, excisão e ligadura do pedículo ovariano direito; Coto: durante o pinçamento, excisão e ligadura do coto uterino; Sutura: após a sutura da parede abdominal; Fim: após a sutura da pele. *: diferença significativa em relação ao basal ($P < 0,05$).

Durante a recuperação anestésica, não houve diferença significativa entre os grupos nos tempos de extubação e tempos decorridos até o decúbito esternal e a posição quadrupedal (tabela 10).

Não houve diferença significativa entre os grupos na glicemia em nenhum dos momentos avaliados. No grupo $MOR_{0,5}$, os valores de glicemia nos momentos Coto e 2 horas não foram significativamente diferentes do basal. Em contrapartida, no grupo $MOR_{1,0}$, houve aumento significativo na glicemia em relação ao basal 2 horas após a extubação (figura 06).

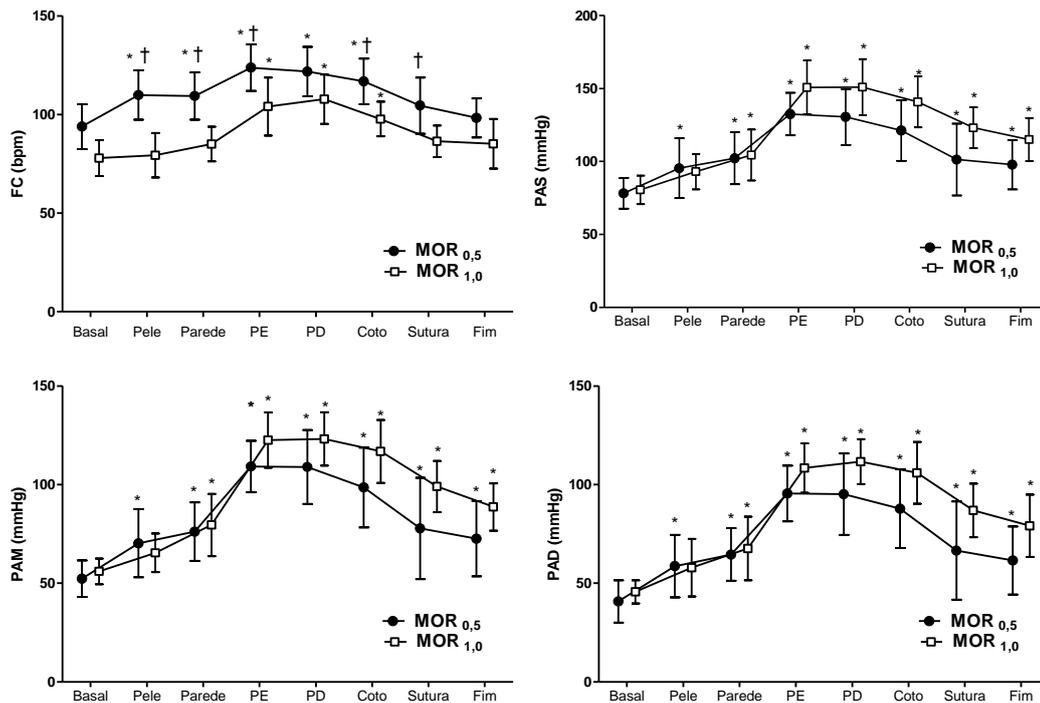


Figura 04: Valores médios (\pm DP) da frequência cardíaca (FC) e pressões arteriais sistólica (PAS), média (PAM) e diastólica (PAD) avaliadas durante momentos cirúrgicos específicos em 16 cadelas submetidas à ovariectomia (OHE) que receberam na medicação pré-anestésica 0,5 mg/kg de morfina (grupo MOR_{0,5}, n=8) ou 1,0 mg/kg de morfina (grupo MOR_{1,0}, n=8). A manutenção da anestesia foi realizada com isoflurano na concentração expirada de 2,0% (grupo MOR_{0,5}) ou 1,6% (grupo MOR_{1,0}). Basal: antes do início da cirurgia; Pele: após a incisão da pele e tecido subcutâneo; Parede: após a incisão da linha alba; PE: durante o pinçamento, excisão e ligadura do pedículo ovariano esquerdo; PD: durante o pinçamento, excisão e ligadura do pedículo ovariano direito; Coto: durante o pinçamento, excisão e ligadura do coto uterino; Sutura: após a sutura da parede abdominal; Fim: após a sutura da pele. *: diferença significativa em relação ao basal; †: diferença significativa entre grupos ($P < 0,05$).

Tabela 10: Valores médios (\pm DP) dos tempos decorridos do fim da anestesia à extubação e do momento da extubação até o animal assumir o decúbito esternal e a posição quadrupedal em 16 cadelas submetidas à ovariectomia (OHE) que receberam na medicação pré-anestésica 0,5 mg/kg de morfina (grupo MOR_{0,5}, n=8) ou 1,0 mg/kg de morfina (grupo MOR_{1,0}, n=8). A manutenção da anestesia foi realizada com isoflurano na concentração expirada de 2,0% (grupo MOR_{0,5}) ou 1,6% (grupo MOR_{1,0}).

	MOR_{0,5}	MOR_{1,0}
Extubação (min)	8 \pm 2	6 \pm 2
Esternal (min)	17 \pm 7	16 \pm 10
Quadrupedal (min)	34 \pm 12	36 \pm 13

A mensuração de cortisol não apresentou diferença significativa entre os grupos. Entretanto, em ambos os grupos houve aumento significativo na concentração sérica de cortisol nos momentos Coto e 2 (tabela 11, figura 07).

Para todos os animais, foi atribuído o valor zero como escore basal de dor e sedação pela EAV. Não houve diferença significativa entre os grupos, durante as seis horas de avaliação, nos escores de dor pela EGM e EAV e nos escores de sedação pela EAV. Nos dois grupos, os escores de dor pela EAV aumentaram significativamente em relação ao basal na 1^a, 2^a, 3^a e 4^a horas após a extubação (tabela 12, figura 08). Entretanto, não houve diferença significativa em relação ao basal nos escores de dor mensurados nos dois grupos pela EGM, durante as seis horas de avaliação (tabela 13, figura 07). Os escores de sedação foram significativamente maiores na 1^a, 2^a e 3^a horas de avaliação, comparando com o momento basal, em ambos os grupos (tabela 14, figura 09).

Tabela 11: Valores médios (\pm DP) da concentração sérica de cortisol e medianas (intervalo interquartil) da glicemia em 16 cadelas submetidas à ovariectomia (OHE) que receberam na medicação pré-anestésica 0,5 mg/kg de morfina (grupo MOR_{0,5}, n=8) ou 1,0 mg/kg de morfina (grupo MOR_{1,0}, n=8). A manutenção da anestesia foi realizada com isoflurano na concentração expirada de 2,0% (grupo MOR_{0,5}) ou 1,6% (grupo MOR_{1,0}).

		MOR _{0,5}	MOR _{1,0}
Glicemia (mg/dL)	Basal	113,0 (94,3 – 169,1)	108,6 (97,5 – 120,2)
	Coto	155,6 (108,8 – 172,0)	125,9 (105,7 – 147,9)
	2 horas	140,4 (106,5 – 191,5)	157,1 (132,0 – 214,1)*
Cortisol (μg/dL)	Basal	4,1 \pm 1,6	5,0 \pm 2,5
	Coto	9,8 \pm 2,4*	8,9 \pm 2,4*
	2 horas	9,0 \pm 3,2*	7,9 \pm 2,4*

Basal: antes do início da cirurgia; Coto: durante o pinçamento, excisão e ligadura do coto uterino; 2 horas: duas horas após a extubação. *: diferença significativa em relação ao basal ($P < 0,05$).

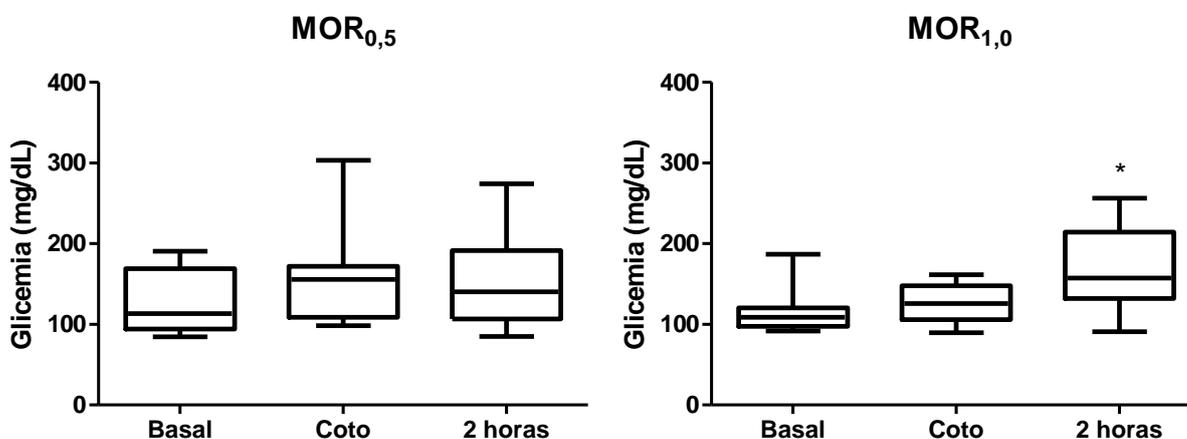


Figura 05: Medianas (intervalo interquartil) da glicemia em 16 cadelas submetidas à ovariectomia (OHE) que receberam na medicação pré-anestésica 0,5 mg/kg de morfina (grupo MOR_{0,5}, n=8) ou 1,0 mg/kg de morfina (grupo MOR_{1,0}, n=8). A manutenção da anestesia foi realizada com isoflurano na concentração expirada de 2,0% (grupo MOR_{0,5}) ou 1,6% (grupo MOR_{1,0}). A linha horizontal no interior das caixas representa a mediana. As caixas contêm 50% dos valores (intervalo interquartil). As barras verticais acima e abaixo das caixas representam os limites superior e inferior, respectivamente. Basal: antes do início da cirurgia; Coto: durante o pinçamento, excisão e ligadura do coto uterino; 2 horas: duas horas após a extubação. *: diferença significativa em relação ao basal ($P < 0,05$).

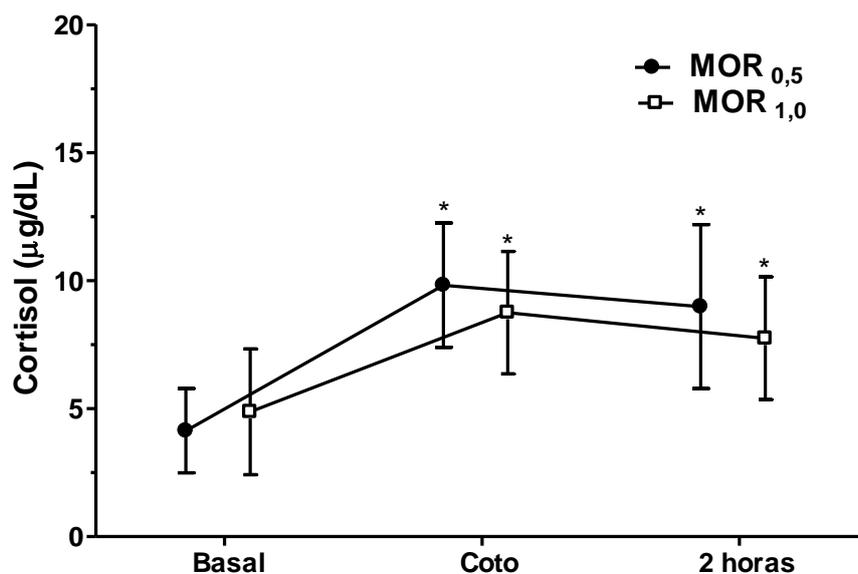


Figura 06: Valores médios (\pm DP) da concentração sérica de cortisol em 16 cadelas submetidas à ovariectomia (OHE) que receberam na medicação pré-anestésica 0,5 mg/kg de morfina (grupo MOR_{0,5}, n=8) ou 1,0 mg/kg de morfina (grupo MOR_{1,0}, n=8). A manutenção da anestesia foi realizada com isoflurano na concentração expirada de 2,0% (grupo MOR_{0,5}) ou 1,6% (grupo MOR_{1,0}). Basal: antes do início da cirurgia; Coto: durante o pinçamento, excisão e ligadura do coto uterino; 2 horas: duas horas após a extubação. *: diferença significativa em relação ao basal ($P < 0,05$).

Tabela 12: Medianas e intervalos interquartis dos escores de dor pela escala analógica visual (EAV) avaliados após cirurgia de ovariectomia (OHE) em 16 cadelas submetidas à ovariectomia que receberam na medicação pré-anestésica 0,5 mg/kg de morfina (grupo MOR_{0,5}, n=8) ou 1,0 mg/kg de morfina (grupo MOR_{1,0}, n=8). A manutenção da anestesia foi realizada com isoflurano na concentração expirada de 2,0% (grupo MOR_{0,5}) ou 1,6% (grupo MOR_{1,0}). O momento Basal foi avaliado antes da OHE e os demais momentos correspondem ao tempo decorrido após a extubação.

	MOR _{0,5}	MOR _{1,0}
Basal	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)
1 hora	2,4 (1,5 – 3,4)*	2,8 (1,7 – 3,2)*
2 horas	2,1 (1,0 – 2,3)*	2,0 (1,2 – 2,3)*
3 horas	1,3 (0,8 – 2,0)*	1,6 (0,6 – 2,0)*
4 horas	0,7 (0,3 – 1,4)*	1,4 (0,1 – 1,5)*
5 horas	0,6 (0,1 – 1,0)	0,8 (0,1 – 1,2)
6 horas	0,4 (0,1 – 0,8)	0,7 (0,1 – 0,7)

*: diferença significativa em relação ao basal ($P < 0,05$).

Tabela 13: Medianas e intervalos interquartis dos escores de dor pela escala composta de dor de Glasgow (EGM) avaliados após cirurgia de ovariectomia (OHE) em 16 cadelas submetidas à ovariectomia que receberam na medicação pré-anestésica 0,5 mg/kg de morfina (grupo MOR_{0,5}, n=8) ou 1,0 mg/kg de morfina (grupo MOR_{1,0}, n=8). A manutenção da anestesia foi realizada com isoflurano na concentração expirada de 2,0% (grupo MOR_{0,5}) ou 1,6% (grupo MOR_{1,0}). O momento Basal foi avaliado antes da OHE e os demais momentos correspondem ao tempo decorrido após a extubação.

	MOR _{0,5}	MOR _{1,0}
Basal	0,08 (0,08 – 0,9)	0,08 (0,08 – 1,10)
1 hora	1,80 (0,20 – 2,4)	1,80 (0,9 – 2,20)
2 horas	1,30 (0,08 – 2,0)	0,90 (0,08 – 1,30)
3 horas	0,87 (0,08 – 0,90)	0,47 (0,08 – 0,90)
4 horas	0,08 (0,08 – 0,87)	0,08 (0,08 – 0,87)
5 horas	0,08 (0,08 – 0,67)	0,08 (0,08 – 0,87)
6 horas	0,08 (0,08 – 0,67)	0,08 (0,08 – 0,87)

Tabela 14: Medianas e intervalos interquartis dos escores de sedação pela escala analógica visual (EAV) avaliados após cirurgia de ovariectomia (OHE) em 16 cadelas submetidas à ovariectomia que receberam na medicação pré-anestésica 0,5 mg/kg de morfina (grupo MOR_{0,5}, n=8) ou 1,0 mg/kg de morfina (grupo MOR_{1,0}, n=8). A manutenção da anestesia foi realizada com isoflurano na concentração expirada de 2,0% (grupo MOR_{0,5}) ou 1,6% (grupo MOR_{1,0}). O momento Basal foi avaliado antes da OHE e os demais momentos correspondem ao tempo decorrido após a extubação.

	MOR _{0,5}	MOR _{1,0}
Basal	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)
1 hora	1,6 (1,2 – 4,2)*	2,6 (1,7 – 3,1)*
2 horas	1,3 (0,8 – 2,2)*	1,5 (0,6 – 2,0)*
3 horas	0,4 (0,2 – 0,6)*	0,5 (0,3 – 0,9)*
4 horas	0,1 (0,0 – 0,6)	0,3 (0,0 – 0,4)
5 horas	0,1 (0,0 – 0,1)	0,1 (0,0 – 0,4)
6 horas	0,0 (0,0 – 0,4)	0,1 (0,0 – 0,2)

*: diferença significativa em relação ao basal ($P < 0,05$).

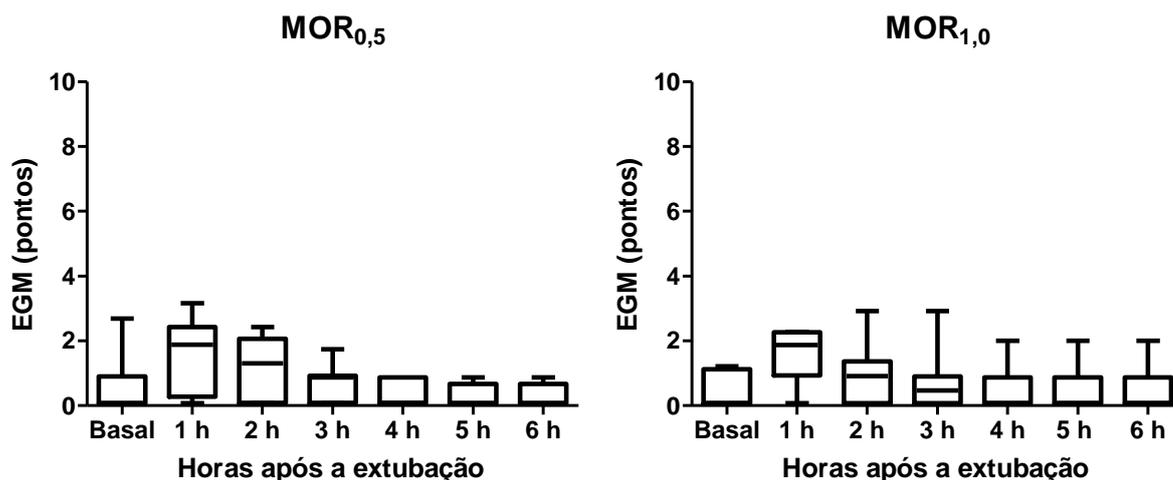


Figura 07: Medianas e intervalos interquartis dos escores de dor pela escala composta de dor de Glasgow (EGM) avaliados após cirurgia de ovariectomia (OHE) em 16 cadelas submetidas à ovariectomia que receberam na medicação pré-anestésica 0,5 mg/kg de morfina (grupo MOR_{0,5}, n=8) ou 1,0 mg/kg de morfina (grupo MOR_{1,0}, n=8). A manutenção da anestesia foi realizada com isoflurano na concentração expirada de 2,0% (grupo MOR_{0,5}) ou 1,6% (grupo MOR_{1,0}). O momento Basal foi avaliado antes da OHE e os demais momentos correspondem ao tempo decorrido após a extubação. A linha horizontal no interior das caixas representa à mediana. As caixas contêm 50% dos valores (intervalo interquartil). As barras verticais acima e abaixo das caixas representam os limites superior e inferior, respectivamente.

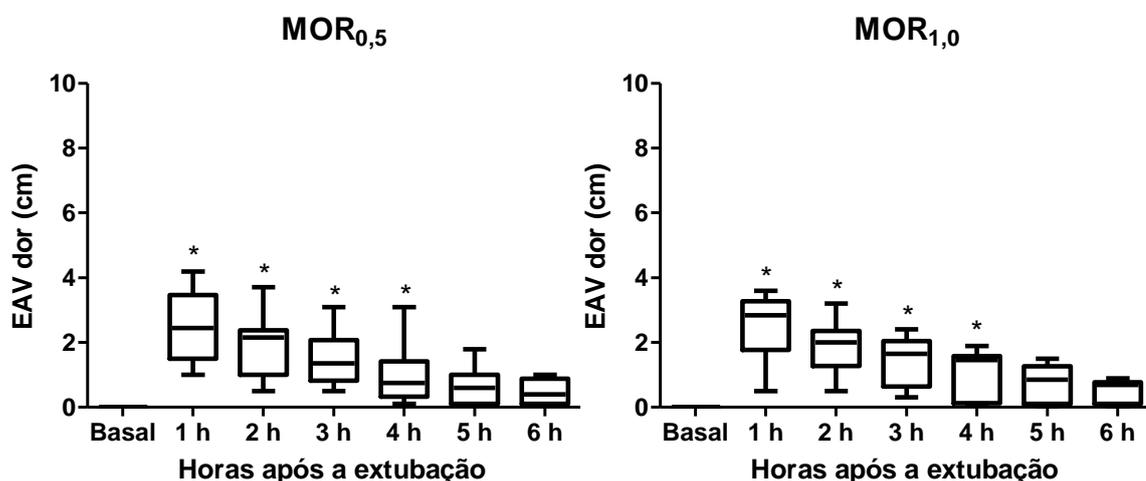


Figura 08: Medianas e intervalos interquartis dos escores de dor, pontuados pela escala analógica visual (EAV), avaliados após cirurgia de ovariectomia (OHE) em 16 cadelas que receberam como medicação pré-anestésica 0,5 mg/kg de morfina (grupo MOR_{0,5}, n=8) ou 1,0 mg/kg de morfina (grupo MOR_{1,0}, n=8). A manutenção da anestesia foi realizada com isoflurano na concentração expirada de 2,0% (grupo MOR_{0,5}) ou 1,6% (grupo MOR_{1,0}). A linha horizontal no interior das caixas representa à mediana. As caixas contêm 50% dos valores (intervalo interquartil). As barras verticais acima e abaixo das caixas representam os limites superior e inferior, respectivamente.

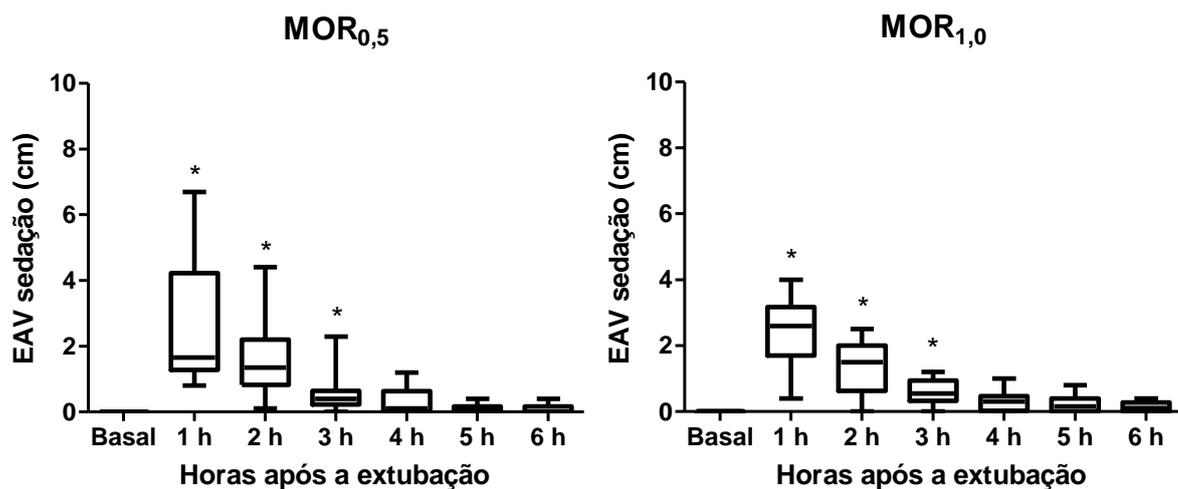


Figura 09: Medianas e intervalos interquartis dos escores de sedação, pontuados pela escala analógica visual (EAV), avaliados após cirurgia de ovariectomia (OHE) em 16 cadelas que receberam como medicação pré-anestésica 0,5 mg/kg de morfina (grupo MOR_{0,5}, n=8) ou 1,0 mg/kg de morfina (grupo MOR_{1,0}, n=8). A manutenção da anestesia foi realizada com isoflurano na concentração expirada de 2,0% (grupo MOR_{0,5}) ou 1,6% (grupo MOR_{1,0}). A linha horizontal no interior das caixas representa à mediana. As caixas contêm 50% dos valores (intervalo interquartil). As barras verticais acima e abaixo das caixas representam os limites superior e inferior, respectivamente.

DISCUSSÃO

No Capítulo 2, objetivou-se realizar a manutenção da anestesia com concentrações equipotentes de isoflurano. A Et_{ISO} no grupo $MOR_{0,5}$ foi padronizada em 2,0% porque a experiência durante a rotina clínica, com técnica anestésica semelhante, demonstrou que concentrações inferiores a esta resultaram em esforços respiratórios em resposta ao estímulo cirúrgico, o que dificultou a instituição da ventilação mecânica em alguns animais. Como a concentração no grupo $MOR_{0,5}$ foi de aproximadamente 2 vezes a CAM_{ISO} determinada para este grupo no Capítulo 1 ($2 \times 0,97\% = 1,94\%$), a Et_{ISO} correspondente a 2 CAM no grupo $MOR_{1,0}$ foi padronizada em 1,6% ($2 \times 0,8\% = 1,6\%$).

Em relação às alterações cardiovasculares, todos os animais avaliados neste presente estudo apresentaram hipotensão no momento basal de avaliação, fato este relacionado principalmente pela alta concentração anestésica com 2 CAM de isoflurano, a qual é compatível com plano profundo de anestesia, resultando em redução da contratilidade do miocárdio, do débito cardíaco, e da RVS pelo halogenado (Pagel et al., 1991).

A resposta cardiovascular demonstrada no presente estudo frente ao estímulo cirúrgico resultou em um aumento significativo da pressão arterial e da frequência cardíaca (aumento percentual máximo de 32% na FC e 109% na PAM do grupo $MOR_{0,5}$ e de 38% na FC e 119% na PAM do grupo $MOR_{1,0}$), observados principalmente nos momentos PE, PD e Coto. Esses resultados podem ser explicados devido ao fato desses momentos cirúrgicos serem os de maior intensidade nociceptiva. Em estudo anterior, Boscan et al. (2011) determinaram a CAM do sevoflurano em doze cadelas através de dois métodos de estimulação nociceptiva: pinçamento de cauda e tração ovariana. Os resultados desse estudo anterior indicaram que a tração ovariana pode ser considerada um estímulo nociceptivo intenso, proporcionando valores de CAM semelhantes ao valor da CAM determinada com o emprego do pinçamento de cauda ($2,16 \pm 0,46\%$ versus $1,86 \pm 0,28\%$, respectivamente), o qual reconhecidamente é um estímulo nociceptivo supramáximo (Valverde et al., 2003).

Em um estudo anterior realizado em humanos, foi relatado que o emprego de concentração anestésica equivalente a 1,5-1,6 múltiplos da CAM do halotano e do

enflurano foi capaz de abolir as respostas autonômicas à estimulação nociceptiva e foi denominada a concentração alveolar mínima baseada na resposta adrenérgica (CAM_{BAR}) (Roizen et al., 1981). No presente estudo, a manutenção da anestesia com isoflurano em concentração equivalente a 2 múltiplos da CAM_{ISO} , nos grupos $MOR_{0,5}$ e $MOR_{1,0}$, não foi capaz de inibir a resposta autonômica frente ao estímulo cirúrgico em cadelas.

Há algumas razões para a ineficiência da técnica anestésica utilizada no presente estudo na inibição da resposta neuroendócrina. Em um estudo anterior, a morfina, na dose de aproximadamente 1,13 mg/kg e 1,45 mg/kg, reduziu a resposta neuroendócrina em 50% dos pacientes e em 95% dos pacientes, respectivamente (Roizen et al., 1981). É possível que as doses de morfina empregadas no presente estudo sejam insuficientes para reduzir a resposta neuroendócrina em cães, mas doses acima destas não costumam ser empregadas na rotina clínica (Pascoe, 2000). Outro fator que pode justificar as discrepâncias entre os estudos foi que, no estudo citado anteriormente (Roizen et al., 1981) a administração da morfina foi associada ao óxido nítrico. Em um estudo recente, realizado em cães, a adição de 70% de óxido nítrico causou redução de 35% na CAM_{BAR} do sevoflurano (Seddighi et al., 2012). Outra possível explicação é que, no presente estudo, foi utilizada a concentração anestésica equivalente a 2 múltiplos de CAM_{ISO} baseada em um estudo em que a CAM foi determinada empregando um estímulo nociceptivo submáximo (Capítulo 1). Não é possível afirmar que a razão de 1,5 a 1,6, relatada entre a CAM_{BAR} e a CAM baseada na resposta motora (CAM_{MOTORA}) determinada com estímulo supramáximo, seja a mesma entre a CAM_{BAR} e a CAM_{MOTORA} determinada com estímulo submáximo. Finalmente, a capacidade de um fármaco em reduzir a CAM_{MOTORA} pode ser diferente da sua capacidade em reduzir a CAM_{BAR} . Em um estudo anterior realizado em cães, a administração intravenosa de 50 µg/kg/min de cetamina causou redução de 40% na CAM_{MOTORA} do sevoflurano (Wilson et al., 2008) enquanto que, em outro estudo na mesma espécie, utilizando a mesma dose de cetamina, os autores relataram que a CAM_{BAR} desse halogenado foi reduzida em apenas 22% (Love et al., 2011). Como o efeito da morfina sobre a CAM_{BAR} do isoflurano em cães não foi relatado na literatura consultada, é possível que concentrações mais elevadas do que as empregadas no presente estudo sejam necessárias para abolir a resposta neuroendócrina durante a realização da OHE em cães.

No presente estudo, mesmo com a utilização de duas diferentes doses de morfina, estas não foram suficientes para abolir a resposta cardiovascular frente ao estímulo nociceptivo já que houve casos de aumentos acima de 100% na PAM, quando comparado com os valores basais. Quando associada a quadros crônicos, a hipertensão arterial pode provocar prejuízos ao paciente tais como descolamento de retina, glomerulopatia por sobrecarga glomerular, hipertrofia concêntrica do miocárdio além do risco de acidente vascular cerebral (AVC), este último com maior casuística em felinos quando comparado aos cães (Brown et al., 2007). Durante o presente estudo, foi observada ausência de hipertensão (PAS < 150 e PAD < 95 mmHg) em 4/8 animais do grupo MOR_{0,5} e 1/8 animais do grupo MOR_{1,0}. Valores classificados como hipertensão moderada (PAS 160-179 ou PAD 100-119 mmHg) foram observados em 3/8 cadelas do grupo MOR_{0,5} e 4/8 cadelas do grupo MOR_{1,0}, enquanto que valores considerados como hipertensão severa (PAS ≥ 180 ou PAD ≥ 120 mmHg) foram observados em 1/8 animais do grupo MOR_{0,5} e 3/8 animais do grupo MOR_{1,0} (Brown et al., 2007). O tempo médio necessário para a realização das cirurgias no presente estudo foi de aproximadamente 30 minutos nos dois grupos. Não é possível afirmar se o tempo que os animais permaneceram sob hipertensão seria suficiente para resultar em uma das complicações relatadas, já que todos os animais que participaram do estudo foram classificados como hígidos e nenhuma complicação foi observada após a realização das cirurgias. Entretanto, a anestesia com morfina e isoflurano para a realização de OHE em cadelas com hipertensão crônica deve ser vista com cautela, uma vez que não se pode afirmar se os picos de hipertensão, mesmo por um curto período, poderiam desencadear ou agravar as complicações relacionadas à hipertensão.

A resposta neuroendócrina e metabólica ao estresse é um mecanismo de defesa do organismo frente a um trauma psicológico, físico ou cirúrgico (Hellyer et al., 2007). Os valores glicêmicos demonstrados no momento basal do presente estudo indicam que, em ambos os grupos, antes do estímulo nociceptivo, os valores apresentavam-se próximos ao limite superior do intervalo de normalidade relatado na literatura (65 a 110 mg/dL) (Faria, 2007). Neste mesmo momento, os valores de cortisol mensurados indicaram que, em ambos os grupos, os valores estavam dentro da normalidade, já que de acordo com Feldman e Nelson (1985) a concentração sérica de cortisol pode variar entre 0,5 – 6,0 µg/dL em cães saudáveis.

Durante o período trans-cirúrgico (momento cirúrgico de pinçamento de coto uterino) não houve diferença significativa dos valores glicêmicos em ambos os grupos em relação ao momento basal, entretanto, demonstrou-se um aumento de 37% e 15% nos valores dos grupos MOR_{0,5} e MOR_{1,0}, respectivamente. Esse efeito sobre a glicemia está possivelmente associado à liberação de catecolaminas, as quais são liberadas pelas adrenais em situações de estresse (Guyton, 1998) e causam aumento da glicemia mediado pela estimulação de receptores adrenérgicos alfa-1 e beta-2 (Chu et al., 2000). Além do efeito sobre a glicemia, no momento Coto houve valores de cortisol significativamente elevados em relação ao basal. O estímulo nociceptivo, assim como qualquer estímulo que resulte em estresse, acarreta em ativação do hipotálamo, o qual estimula o hormônio liberador de corticotrofina (CRH), que, por sua vez, causa a liberação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), promovendo secreção de glicocorticoides (Guyton, 1998). No caso de cirurgias de OHE, foi relatado que a intensidade da estimulação nociceptiva parece ser similar àquela do pinçamento de cauda, o qual é considerado estímulo supramáximo (Boscan et al., 2011). Portanto, a elevação da glicemia e cortisol no momento Coto estão provavelmente associados à realização do procedimento cirúrgico.

Decorridas duas horas após a extubação, houve aumento significativo na glicemia no grupo MOR_{1,0} (45% acima do basal) e os valores de concentração de cortisol foram significativamente elevados em ambos os grupos quando comparados com o momento basal. No mesmo momento, embora a diferença não tenha sido significativa, a glicemia no grupo MOR_{0,5} apresentou valor 24% acima do basal. Esses resultados demonstram que o protocolo anestésico utilizado não foi eficiente para inibir a resposta neuroendócrina no período pós-operatório imediato e o aumento na glicemia e no cortisol poderiam sugerir que os animais tenham experimentado dor (Ko et al., 2000; Mastrocinque e Fantoni, 2003). Entretanto, os escores de dor pós-operatória de acordo com a EGM foram baixos durante todo o período pós-operatório e, apesar dos escores pela EAV terem sido significativamente maiores do que o basal de 1 a 4 horas após a extubação, nenhum animal atingiu a pontuação necessária para a administração do resgate analgésico (baseado na EGM) no presente estudo. Outro fato que reforça que a analgesia pós-operatória foi adequada é que a meia-vida do cortisol em humanos é de 70 minutos (Guyton, 1998). Apesar de poder haver diferenças na meia-vida desse hormônio

entre as espécies, é possível que os valores aumentados do cortisol no período pós-operatório tenham sido influenciados pela liberação no período trans-operatório.

A avaliação de dor pós-operatória no presente estudo foi realizada utilizando a EGM como o principal método. Baseado em estudo anterior, apesar de ter sido originalmente validada na língua inglesa, esta escala também demonstrou ser eficiente para avaliação da dor em cães em países onde a língua oficial não é o inglês (Murrell et al., 2008). De acordo com essa escala, a analgesia pós-operatória foi adequada nos animais dos dois grupos no presente estudo, não havendo diferença significativa nos escores de dor antes e após a OHE.

No presente estudo, os escores de sedação foram significativamente maiores do que o basal de 1 a 3 horas em ambos os grupos. A ocorrência de sedação poderia afetar alguns dos critérios avaliados na EGM bem como na avaliação pela EAV, resultando em escores de dor artificialmente elevados. Apesar da elevação significativa nos escores de dor pela EAV de 1 a 4 horas após a extubação, as medianas dos escores nos dois grupos foram baixas, correspondendo a menos de 1/3 do total da escala nos dois grupos, e nenhum animal recebeu resgate analgésico, sugerindo que a influência da sedação nos escores de dor não foi clinicamente importante.

CONCLUSÃO

Com os resultados do presente estudo foi possível concluir que:

1. A utilização da morfina através da via intramuscular causa redução dose dependente sobre a CAM_{ISO} .
2. A administração das doses de morfina através da via intramuscular utilizadas no estudo não é eficiente em abolir as respostas cardiovascular e endócrina diante do estímulo nociceptivo da OHE.
3. O uso das duas doses de morfina na MPA através da via intramuscular é eficiente no controle da dor pós-operatória em cadelas submetidas à OHE durante as primeiras 6 horas do período pós-operatório.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aguado D, De Segura IAG. Reduction of the minimum alveolar concentration of isoflurane in dogs using a constant rate of infusion of lidocaine-ketamine in combination with either morphine or fentanyl. *Vet J* 2010; 189:63-66.

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

Barnhart MD, Hubbell JA, Muir WW, Sams RA, Bednarski RM. Pharmacokinetics, pharmacodynamics, and analgesic effects of morphine after rectal, intramuscular, and intravenous administration in dogs. *Am J Vet Res.* 2000 Jan; 61 (1): 24-8.

Boscan P, Monnet E, Mama K, Twedt DC, Congdon J, Eickhoff JC, Steffey EP. A dog model to study ovary, ovarian ligament and visceral pain. *Vet Anaesth Analg.* 2011 May; 38 (3): 260-6.

Brown S, Atkins C, Bagley R, Carr A, Cowgill L, Davidson M, Egner B, Elliott J, Henik R, Labato M, Littman M, Polzin D, Ross L, Snyder P, Stepien R; American College of Veterinary Internal Medicine. Guidelines for the identification, evaluation, and management of systemic hypertension in dogs and cats. *J Vet Intern Med.* 2007 May-Jun; 21 (3): 542-58.

Callaghan JC, Mcqueen DA, Scott JW, Bigelow WG. Cerebral effects of experimental hypothermia. *AMA Arch Surg.* 1954 Feb; 68 (2): 208-15.

Carpenter RE, Wilson DV, Evans AT Evaluation of intraperitoneal and incisional lidocaine or bupivacaine for analgesia following ovariohysterectomy in the dog. *Vet Anaesth Analg.* 2004 Jan; 31(1): 46-52.

Carter CN. Pet population control: another decade without solutions? *J Am Vet Med Assoc.* 1990 Jul 15; 197 (2): 192-5.

Chu CA, Sindelar DK, Igawa K, Sherck S, Neal DW, Emshwiller M, Cherrington AD. The direct effects of catecholamines on hepatic glucose production occur via alpha (1)- and beta (2)-receptors in the dog. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2000 Aug; 279 (2): 463-73.

Dixon WJ. The up-and-down method for small samples. *J Am Assoc* 1965; 60: 967-978.

Docquier M A, Lavand'homme P, Ledermann C, Collet V, De Kock M. Can determining the minimum alveolar anesthetic concentration of volatile anesthetic be used as an objective tool to assess antinociception in animals? *Anesthesia and Analgesia* 2003; 397: 1003–1039.

Duarte LT, Saraiva RA. Immobility: essential inhalational anesthetics action. *Rev Bras Anesthesiol*. 2005 Feb; 55 (1):100-17.

Dzikiti TB, Joubert KE, Venter LJ, Dzikiti LN. Comparison of morphine and carprofen administered alone or in combination for analgesia in dogs undergoing ovariohysterectomy. *J S Afr Vet Assoc*. 2006 Sep; 77(3): 120-6.

Eger II EL, Saindman LJ, Brandstater B. Minimum alveolar anesthetic concentration: a standard of anesthetic potency. *Anesthesiology* 1965; 26: 756-763.

Eisele JH, Eger EI 2nd, Muallem M. Narcotic properties of carbon dioxide in the dog. *Anesthesiology*. 1967 Sep-Oct; 28 (5): 856-65.

Fantoni D T, Mastrocinque S. Fisiopatologia e controle da dor. In: Fantoni D T, Cortopassi S R G. *Anestesia em cães e gatos*. São Paulo: Roca, 2002, cap. 31, p. 322-336.

Feldman E C, Nelson R W. The adrenal gland. In: *Canine and feline endocrinology and reproduction*. Philadelphia: Saunders, 1985. p.187-322.

Fonseca C S, Daleck CR. Neoplasias Mamarias em Cadelas: influência hormonal e efeitos da ovário-histerectomia como terapia adjuvante. *Ciência Rural* 2000; 30 (4): 731-735.

Faria, P F. Diabetes Melittus em Cães. *Acta Veterinaria Brasílica* 2007; 1(1): 8-22.

Guyton AC. Os Hormônios Córtico-Supra-Renais. Guyton AC e John EH. In: *Fisiologia Humana e Mecanismos das Doenças*. 6 ed. Guanabara Koogan.1998; 549 – 565.

Guedes AG, Rudé EP, Rider MA. Evaluation of histamine release during constant rate infusion of morphine in dogs. *Vet Anaesth Analg* 2006; 33: 28-35.

Guedes AG, Papich MG, Rude EP, Rider MA. Comparison of plasma histamine levels after intravenous administration of hydromorphone and morphine in dogs. *J Vet Pharmacol Ther* 2007 Dec; 30: 516-22.

Hansen BD, Hardie EM, Carrol GS: Physiological measurements after ovariohysterectomy in dogs: what's normal? *Appl Anim Behav Sci* 1997; 51: 101–109.

Hellyer P W, Robertson S A, Fails A D. Pain and Its Management. Thurmon JC, Tranquilli WJ, Benson GJ. In: Lumb & Jones Veterinay Anesthesia. 4th ed. Blackwell publishing, 2007; 31 – 57.

Henao-Guerrero PN, McMurphy R, Kukanich B, Hodgson DS. Effect of morphine on the bispectral index during isoflurane anesthesia in dogs. *Vet Anaesth Analg*. 2009; 36 (2): 133-43.

Ilkiw J E, Pascoe P J, Haskins S C, Patz J D, Jaffe R. The cardiovascular sparing effect of fentanyl and atropine, administered to enflurane anesthetized dogs. *Can J Vet Res*. 1994 Oct; 58 (4): 248-53.

Ko JC, Mandsager RE, Lange DN, Fox SM. Cardiorespiratory responses and plasma cortisol concentrations in dogs treated with medetomidine before undergoing ovariohysterectomy. *J Am Vet Med Assoc*. 2000 Aug 15;217(4):509-14.

Ko JC, Weil AB, Inoue T. Effects of carprofen and morphine on the minimum alveolar concentration of isoflurane in dogs. *J Am Anim Hosp Assoc* 2009; 45: 19-23.

Lamont L A, Mathews K A. Opioids, Nonsteroidal Anti-inflammatories, and Analgesic Adjuvants. Thurmon J C, Tranquilli W J, Benson G J. In: Lumb & Jones Veterinay Anesthesia. 4th ed. Blackwell publishing, 2007.

Love L, Egger C, Rohrbach B, Cox S, Hobbs M, Doherty T. The effect of ketamine on the MACBAR of sevoflurane in dogs. *Vet Anaesth Analg*. 2011 Jul;38(4):292-300.

Lowenstein E. Morphine "anesthesia"--a perspective. *Anesthesiology*. 1971 Dec; 35 (6): 563-5.

Lucas AN, Firth AM, Anderson GA, Vine JH, Edwards GA. Comparison of the effects of morphine administered by constant-rate intravenous infusion or intermittent intramuscular injection in dogs. *J Am Vet Med Assoc*. 2001 Mar 15; 218 (6): 884-91.

Maiante AA, Teixeira Neto FJ, Beier SL, Corrente JE, Pedroso CE. Comparison of the cardio-respiratory effects of methadone and morphine in conscious dogs. *J Vet Pharmacol Ther.* 2009 Aug;32(4):317-28.

Massone F. *Anestesiologia Veterinária*. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003, 326p.

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

Merkel G, Eger II EL. A comparative study of halothane and halopropane anesthesia including method for determining equipotency. *Anesthesiology* 1963; 24: 346-357.

Monteiro ER, Teixeira-Neto FJ, Campagnol D, Alvaides RK, Garofalo NA, Matsubara LM. Effects of remifentanil on the minimum alveolar concentration of isoflurane in dogs. *Am J Vet Res.* 2010 Feb; 71(2): 150-6.

Muir WW, Wiese AJ, March PA. Effects of morphine, lidocaine, ketamine and morphine-lidocaine-ketamine drug combination on minimum alveolar concentration in dogs anesthetized with isoflurane. *Am J Vet Res* 2003; 64: 1155-1160.

Murrell JC, Psatha EP, Scott EM, Reid J, Hellebrekers LJ. Application of a modified form of the Glasgow pain scale in a veterinary teaching centre in the Netherlands. *Vet Rec.* 2008 Mar; 162 (13): 403-8.

Murphy MR, Hug Jr CC. The enflurane sparing effects of morphine, butorphanol and nalbuphine. *Anesthesiology* 1982; 57: 489-492.

Mutoh T, Nishimura R, Kim HY, Matsunaga S, Sasaki N. Cardiopulmonary effects of sevoflurane, compared with halothane, enflurane, and isoflurane, in dogs. *Am J Vet Res.* 1997 Aug; 58 (8): 885-90.

Nakamura K, Nara E, Fuse T, Akiyama Y. Pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluations of novel oral morphine sustained release granules. *Biol Pharm Bull.* 2007 Aug; 30 (8): 1456-60.

Pagel PS, Kampire JP, Schmeling WT, et al. Comparison of the systemic and coronary hemodynamic actions of desflurane, isoflurano, halothane and enflurane in the chronically instrumented dog. *Anesthesiology* 1991; 74: 539-551.

Pascoe PJ. Opioid analgesics. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2000 Jul; 30(4): 757-72.

Paul M, Fisher DM. Are estimates of MAC reliable? *Anesthesiology.* 2001 Dec;95 (6): 1362-70.

Quasha AL, Eger II EL, Tinker JH. Determination and applications of MAC. *Anesthesiology* 1980; 53: 315-334.

Roizen MF, Horrigan RW, Frazer BM. Anesthetic doses blocking adrenergic (stress) and cardiovascular responses to incision--MAC BAR. *Anesthesiology.* 1981 May; 54 (5): 390-8.

Sams L, Braun C, Allman D, Hofmeister E. A comparison of the effects of propofol and etomidate on the induction of anesthesia and on cardiopulmonary parameters in dogs. *Vet Anaesth Analg.* 2008 Nov; 35 (6): 488-94.

Seddighi R, Egger CM, Rohrbach BW, Hobbs M, Doherty TJ. Effect of nitrous oxide on the minimum alveolar concentration for sevoflurane and the minimum alveolar concentration derivatives that prevent motor movement and autonomic responses in dogs. *Am J Vet Res.* 2012 Mar; 73 (3): 341-5.

Steffey EP, Howland D Jr. Isoflurane potency in the dog and cat. *Am J Vet Res.* 1977 Nov; 38 (11): 1833-6.

Steffey EP, Eger EI. The effect of seven vasopressors of halothane MAC in dogs. *Br J Anaesth.* 1975 Apr; 47 (4): 435-8.

Steffey EP, Mama KR. Inhalation Anesthetic. In: Tranquilli MJ, Thurmon JC, Grimm AK. In: Lamb and Jones: *Vet Anesth Analg.* 4nd ed. Iowa: Blackwell Publishing, 2007; 357,359 e 372.

Stephenson RB. O coração como uma Bomba. In: Cunningham JG. *Tratado de Fisiologia Veterinária.* Rio de Janeiro; 1999. p. 147-160.

Sonner JM. Issues in the design and interpretation of minimum alveolar anesthetic concentration (MAC) studies. *Anesth Analg.* 2002 Sep; 95 (3): 609-14.

Górniak, SL. Hipnoanalgésicos e neuroleptoanalgesia. In: Spinoso HS, Górniak, SL, Bernardi, MM. Farmacologia aplicada à medicina veterinária. 5ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, p.170-179,2011.

Tanifuji Y, Eger EI. Effect of arterial hypotension on anaesthetic requirement in dogs. *Br J Anaesth* 1976; 48: 947 – 952.

Valverde A, Morey TE, Hernández J, et al. Validation of several types of noxious stimuli for use in determining the minimum alveolar concentration for inhalation anesthetics in dogs and rabbits. *Am J Vet Res* 2003; 64: 957-962.

Valverde A, Dyson DH, McDonell WN. Epidural morphine reduces halothane MAC in the dog. *Can J Anaesth.* 1989 Nov; 36 (6): 629-32.

Wilson J, Doherty TJ, Egger CM, Fidler A, Cox S, Rohrbach B. Effects of intravenous lidocaine, ketamine, and the combination on the minimum alveolar concentration of sevoflurane in dogs. *Vet Anaesth Analg.* 2008 Jul; 35 (4): 289-96.

Wouden J, Miller K W. General Anesthetic Pharmacology. In: Golan D E, Tashjian A H Jr, Armstrong E J, Armstrong A W. Principles of Pharmacology, The Pathophysiologic Bases of Drug Therapy. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer; 2001. p. 240 – 259.