

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**ESTUDO “*in vitro*” E “*in vivo*” DA ADMINISTRAÇÃO  
SUBARACNÓIDE DE OPIÓIDES HIPERBÁRICOS EM  
CAVALOS**

**TESE DE DOUTORADO**

**Alexandre da Silva Polydoro**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2006**

# **ESTUDO “*in vitro*” E “*in vivo*” DA ADMINISTRAÇÃO SUBARACNÓIDE DE OPIÓIDES HIPERBÁRICOS EM CAVALOS**

**por**

**Alexandre da Silva Polydoro**

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Cirurgia Veterinária, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Medicina Veterinária.**

**Orientador: Prof. Alceu Gaspar Raiser**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2006**

**Universidade Federal de Santa Maria  
Centro de Ciências Rurais  
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Tese de  
Doutorado

**ESTUDO “*in vitro*” E “*in vivo*” DA ADMINISTRAÇÃO  
SUBARACNÓIDE DE OPIÓIDES HIPERBÁRICOS EM  
CAVALOS**

elaborada por  
**Alexandre da Silva Polydoro**

**COMISSÃO EXAMINADORA**

**Alceu Gaspar Raiser, Dr.**  
(Presidente/Orientador)

**Cláudio Corrêa Natalini, PhD**

**Ney Luis Pippi, PhD**

**Miriam Seligman Menezes, Dra.**

**Alexandre Mazzanti, Dr.**

Santa Maria, 31 de outubro de 2006.

## RESUMO

**Tese de Doutorado**  
**Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária**  
**Universidade Federal de Santa Maria**

# **ESTUDO “*in vitro*” E “*in vivo*” DA ADMINISTRAÇÃO SUBARACNÓIDE DE OPIÓIDES HIPERBÁRICOS EM CAVALOS**

AUTOR: ALEXANDRE DA SILVA POLYDORO

ORIENTADOR: ALCEU GASPAS RAISER

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 31 de outubro de 2006.

Este trabalho apresenta a investigação da utilização de soluções hiperbáricas de opióides e glicose a 10% em um modelo experimental “*in vitro*” do espaço subaracnóide, bem como o estudo “*in vivo*” da administração de opióides hiperbáricos e glicose a 10% pela via subaracnóide em cavalos. A primeira fase “*in vitro*”, constou da utilização de um modelo confeccionado em PVC (policloreto de vinila) transparente, preenchido com líquido cérebro espinhal equino, onde foram injetados os agentes opióides hiperbáricos e glicose a 10% marcados com azul de metileno, com o objetivo de avaliar o comportamento físico de distribuição das substâncias no modelo. Na segunda fase “*in vivo*”, os opióides hiperbáricos (morfina, buprenorfina e metadona) e glicose a 10% (grupo controle) foram administrados pela via subaracnóide em seis cavalos adultos por meio de um cateter. Avaliaram-se efeitos cardiorrespiratórios, comportamentais e limiar doloroso por estimulação elétrica dos dermatômos perineal, sacral, lombar e torácico. Os resultados mostraram que o modelo proposto serviu como base para a escolha dos agentes utilizados pela via subaracnóide. Houve produção de analgesia segmentar considerada intensa com a morfina hiperbárica e a metadona hiperbárica, e analgesia moderada com a buprenorfina hiperbárica, com mínimos efeitos sobre as funções cardiorrespiratórias, sem ocorrência de ataxia ou excitação do SNC.

Palavras-chave: opióide hiperbárico, subaracnóide, morfina, buprenorfina, metadona.

## ABSTRACT

**Tese de Doutorado**  
**Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária**  
**Universidade Federal de Santa Maria**

### **“IN VITRO” AND “IN VIVO” STUDY OF SUBARACHNOID ADMINISTRATION OF HYPERBARIC OPIOIDS IN HORSES**

AUTOR: ALEXANDRE DA SILVA POLYDORO

ORIENTADOR: ALCEU GASPAS RAISER

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 31 de outubro de 2006.

This study reports the investigation of hyperbaric opioids and 10% glucose studied in a experimental *“in vitro”* model of a subarachnoid space and the *“in vivo”* subarachnoid administration of hyperbaric opioids and 10% glucose in horses. The first *“in vitro”* phase was done with a translucent poly vinyl chloride (PVC) model filled with horse cerebral spinal fluid and injected with hyperbaric opioids and 10% glucose tinted with methylene blue. The objective was to evaluate the physic behavior of the substances within the model. In the second *“in vivo”* phase, the hyperbaric opioids (morphine, methadone and buprenorphine) were subarachnoidally administered in six adult horses through a subarachnoid catheter. Cardiopulmonary effects, behavior and pain threshold to noxious electrical stimulation on the perineal, lumbar, sacral and thoracic dermatomes was evaluated. Therresults demonstrated that the model was able to indicate the more appropriate opioids to be used subarachnoidally, and that segmental analgesia was considered intense with hyperbaric morphine and hyperbaric methadone, and moderate with hyperbaric buprenorphine, with minimal effects on cardiorespiratory function, without ataxia or CNS excitation.

Key-words: hyperbaric opioids, subarachnoid, morphine, buprenorphine, methadone.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Duas unidades do modelo experimental subaracnóide de PVC transparente fixados em bancada .....	28
FIGURA 2 - Aspecto lateral do dermatomo perineal, sacral, lombar e torácico .....	33
FIGURA 3 - Aspecto caudal do dermatomo perineal, sacral e lombar conforme descrito por SKARDA & MUIR (1993) e SCHELLING & KLEIN (1985).....	34
FIGURA 4 - Média e desvio padrão da frequência cardíaca de cavalos submetidos à administração subaracnóide de glicose a 10%, morfina hiperbárica, buprenorfina hiperbárica e metadona hiperbárica .....	37
FIGURA 5 - Média e desvio padrão da frequência respiratória de cavalos submetidos à administração subaracnóide de glicose a 10%, morfina hiperbárica, buprenorfina hiperbárica e metadona hiperbárica .....	38
FIGURA 6 - Média e desvio padrão da pressão arterial sistólica de cavalos submetidos à administração subaracnóide de glicose a 10%, morfina hiperbárica, buprenorfina hiperbárica e metadona hiperbárica .....	38
FIGURA 7 - Média e desvio padrão da pressão arterial diastólica de cavalos submetidos à administração subaracnóide de glicose a 10%, morfina hiperbárica, buprenorfina hiperbárica e metadona hiperbárica .....	39
FIGURA 8 - Média e desvio padrão da pressão arterial média de cavalos submetidos à administração subaracnóide de glicose a 10%, morfina hiperbárica, buprenorfina hiperbárica e metadona hiperbárica .....	42
FIGURA 9 - Média e desvio padrão do limiar de dor à estimulação elétrica aplicado no dermatomo perineal após a administração subaracnóide de glicose a 10%, morfina hiperbárica, buprenorfina hiperbárica e metadona hiperbárica em cavalos .....	40
FIGURA 10 - Média e desvio padrão do limiar de dor à estimulação elétrica aplicado no dermatomo sacral após a administração subaracnóide de glicose a	

10%, morfina hiperbárica, buprenorfina hiperbárica e metadona hiperbárica em cavalos .....	43
FIGURA 11 - Média e desvio padrão do limiar de dor à estimulação elétrica aplicado no dermatomo lombar após a administração subaracnóide de glicose a 10%, morfina hiperbárica, buprenorfina hiperbárica e metadona hiperbárica em cavalos .....	44
FIGURA 12 - Média e desvio padrão do limiar de dor à estimulação elétrica aplicado no dermatomo torácico após a administração subaracnóide de glicose a 10%, morfina hiperbárica, buprenorfina hiperbárica e metadona hiperbárica em cavalos .....	45
FIGURA 13 - Média e desvio padrão do pH de cavalos submetidos à administração subaracnóide de glicose a 10%, morfina hiperbárica, buprenorfina hiperbárica e metadona hiperbárica .....	46
FIGURA 14 - Média e desvio padrão da PaCO <sub>2</sub> de cavalos submetidos à administração subaracnóide de glicose a 10%, morfina hiperbárica, buprenorfina hiperbárica e metadona hiperbárica .....	46
FIGURA 15 - Média e desvio padrão da PaO <sub>2</sub> de cavalos submetidos à administração subaracnóide de glicose a 10%, morfina hiperbárica, buprenorfina hiperbárica e metadona hiperbárica .....	47
FIGURA 16 - Média e desvio padrão do HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> de cavalos submetidos à administração subaracnóide de glicose a 10%, morfina hiperbárica, buprenorfina hiperbárica e metadona hiperbárica .....	47
FIGURA 17 - Média e desvio padrão da SatO <sub>2</sub> % de cavalos submetidos à administração subaracnóide de glicose a 10%, morfina hiperbárica, buprenorfina hiperbárica e metadona hiperbárica .....	48
FIGURA 18 - Média e desvio padrão do Na <sup>+</sup> de cavalos submetidos à administração subaracnóide de glicose a 10%, morfina hiperbárica, buprenorfina hiperbárica e metadona hiperbárica .....	48
FIGURA 19 - Média e desvio padrão do K <sup>+</sup> de cavalos submetidos à administração subaracnóide de glicose a 10%, morfina hiperbárica, buprenorfina hiperbárica e metadona hiperbárica .....	49
FIGURA 20 - Média e desvio padrão do iCa de cavalos submetidos à administração subaracnóide de glicose a 10%, morfina hiperbárica, buprenorfina hiperbárica e metadona hiperbárica .....	50

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Registro do avanço (em centímetros) dos fármacos testados no modelo experimental do espaço subaracnóide de cavalos .....	51
TABELA 2 - Médias e desvios padrões da pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD) e pressão arterial média (PAM) antes (tempo 0) e após (10 a 180 minutos) da administração subaracnóide de morfina hiperbárica (Morfina10), buprenorfina hiperbárica (Buprenorfina10), metadona hiperbárica (Metadona10) e glicose a 10% em cavalos (n=6) .....	52
TABELA 3 - Médias e desvios padrões da frequência cardíaca (batimentos/minuto), frequência respiratória (movimentos/minuto) e distância da cabeça ao solo (cm) antes (tempo 0) e após (10 a 180 minutos) da administração subaracnóide de morfina hiperbárica (Morfina10), buprenorfina hiperbárica (Buprenorfina10), metadona hiperbárica (Metadona10) e glicose a 10% em cavalos (n=6).....	53
TABELA 4 - Médias e desvios padrões da estimulação elétrica (volts) no Dermátomo Perineal, antes (tempo 0), e após (10 a 180 minutos) da administração subaracnóide de morfina hiperbárica (Morfina10), buprenorfina hiperbárica (Buprenorfina10), metadona hiperbárica (Metadona10) e glicose a 10% em cavalos (n=6).....	54
TABELA 5 - Médias e desvios padrões da estimulação elétrica (volts) no Dermátomo Sacral, antes (tempo 0), e após (10 a 180 minutos) da administração subaracnóide de morfina hiperbárica (Morfina10), buprenorfina hiperbárica (Buprenorfina10), metadona hiperbárica (Metadona10) e glicose a 10% em cavalos (n=6).....	55
TABELA 6 - Médias e desvios padrões da estimulação elétrica (volts) no Dermátomo Lombar, antes (tempo 0), e após (10 a 180 minutos) da administração subaracnóide de morfina hiperbárica (Morfina10), buprenorfina hiperbárica	

(Buprenorfina10), metadona hiperbárica (Metadona10) e glicose a 10% em cavalos (n=6).....	56
TABELA 7 - Médias e desvios padrões da estimulação elétrica (volts) no Dermátomo Torácico, antes (tempo 0), e após (10 a 180 minutos) da administração subaracnóide de morfina hiperbárica (Morfina10), buprenorfina hiperbárica (Buprenorfina10), metadona hiperbárica (Metadona10) e glicose a 10% em cavalos (n=6).....	57
TABELA 8 - Médias e desvios padrões do pH arterial( pH), pressão arterial de O <sub>2</sub> (PaO <sub>2</sub> ) e pressão arterial de CO <sub>2</sub> (PaCO <sub>2</sub> ), antes (tempo 0), aos 90 minutos a aos 180 minutos após a administração subaracnóide de morfina hiperbárica (Morfina10), buprenorfina hiperbárica (Buprenorfina10), metadona hiperbárica (Metadona10) e glicose a 10% em cavalos (n=6) .....	58

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	10
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	12
2.1. A dor e sua percepção.....	12
2.2. O processamento nociceptivo na medula espinhal.....	13
2.3. Receptores de adenosina.....	14
2.4. Receptores adrenérgicos.....	14
2.5. Receptores GABA.....	15
2.6. Receptores opióides.....	15
2.7. O processamento supra-espinhal da informação nociceptiva.....	15
2.8. A modulação descendente da nocicepção.....	16
2.9. Fármacos opióides em cavalos.....	17
2.10. Fármacos opióides espinhais.....	18
2.11. Modelos de dor em cavalos.....	20
2.12. Modelos experimentais “ <i>in vitro</i> ”.....	23
2.13. Substâncias hiperbáricas para analgesia espinhal.....	24
3. MATERIAL E MÉTODO.....	25
3.1. Fase “ <i>in vitro</i> ”.....	25
3.2. Fase “ <i>in vivo</i> ”.....	27
3.2.1. Desenho experimental.....	27
3.2.2. Cateterização subaracnóide.....	28
3.2.3. Administração subaracnóide dos opióides hiperbáricos e glicose a 10%.....	29
3.2.4. Modelo de estímulo de dor e avaliação analgésica.....	30
3.2.5. Parâmetros cardiorrespiratórios, hemogasométricos e distância da cabeça em relação ao solo.....	31
3.2.6. Análise estatística.....	32
4. RESULTADOS.....	34
4.1. Fase “ <i>in vitro</i> ”.....	34
4.2. Fase “ <i>in vivo</i> ”.....	35
5. DISCUSSÃO.....	56
5.1. Fase “ <i>in vitro</i> ”.....	56
5.2. Fase “ <i>in vivo</i> ”.....	57
6. CONCLUSÕES.....	64
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	65

## 1. Introdução

O reconhecimento e o tratamento para o alívio da dor em pacientes veterinários é um conceito público e uma técnica de responsabilidade do Médico Veterinário. A dor pós-operatória, bem como o estresse como resposta ao trauma sofrido, pode ser prevenida, em alguns casos, com a utilização de anestesia e analgesia regional, reduzindo a morbidade pós-operatória (BONICA, 1992). Prover analgesia efetiva em cavalos com injúria ortopédica ou em tecidos moles permanece um desafio, devido à eficácia dos agentes disponíveis para uso ser limitada, ou então haver risco de efeitos adversos associados ao uso de determinadas substâncias (CLARK & CLARK, 1999). Por exemplo, antiinflamatórios não esteróides, são efetivos para o tratamento de dor moderada a severa em eqüinos, porém o uso por tempo prolongado está associado com efeitos deletérios potenciais no trato gastrointestinal e danos renais (BEITZ, 1992). Da mesma forma, administração IM ou IV de fármacos opióides, tem sido associado a íleo paralítico e alterações comportamentais em eqüinos (OHARA et al., 1988).

A grande variedade de fraturas intra-articulares encontradas com freqüência em cavalos jovens e, por outro lado, as doenças degenerativas das articulações que atingem os eqüinos de todas as idades, são os problemas mais freqüentes e comuns que ocorrem nos animais de competição, com considerável prejuízo econômico, sendo situação de rotina em que possam ser utilizadas técnicas de analgesia subaracnóide como opção terapêutica.

Diversas técnicas utilizando derivados opióides isobáricos pela via subaracnóide estão descritas para uso clínico em cavalos, porém a utilização de fármacos opióides hiperbáricos ainda não foi proposta, e devido às características físicas das substâncias hiperbáricas sugerirem efeito analgésico segmentar potente, e efeitos cardiovasculares e respiratórios adversos limitados, propõem-se o presente estudo, uma vez que além de ser de extrema importância para uso na espécie eqüina, poderá ser base para estudos em diversas espécies animais.

O uso de modelos experimentais vem num crescente em pesquisas na grande área da Cirurgia, uma vez que podem em algumas situações abreviarem o tempo de investigação com unidades experimentais, permitindo uma prévia dos efeitos esperados. Em nosso estudo, desenvolvemos um modelo experimental de um espaço subaracnóide de um cavalo adulto, oferecendo a possibilidade de visão

do comportamento físico dos agentes a serem escolhidos para uso nos animais experimentais.

Devido a grande importância no contexto zootécnico e social, o cavalo ocupa uma posição de destaque em nosso estado, e a investigação científica de técnicas destinadas ao controle da dor, é sem dúvida fator crucial para o avanço da área.

Sendo assim, a fase *in vitro*, no modelo que mimetizou o espaço subaracnóide de um cavalo adulto, teve por objetivo a avaliação do comportamento físico de diferentes opióides hiperbáricos, servindo como base para a escolha das substâncias para posterior uso *in vivo*, que objetivou avaliar os efeitos da administração de opióides hiperbáricos pela via subaracnóide sobre as funções cardiorrespiratória, sobre o limiar de dor à estimulação elétrica e sobre o comportamento dos cavalos utilizados na pesquisa.

## **2. Revisão Bibliográfica**

### **2.1. A Dor e sua Percepção**

Dor é definida pela Associação Internacional para o estudo da Dor como sendo “uma desagradável experiência emocional e sensorial associada a um dano tecidual”. A parte emocional e psicológica desta definição apresenta grande dificuldade de avaliação nos animais, uma vez que eles não são capazes de expressarem verbalmente sua sensação. Sherrington em 1906 observou que no homem, usualmente a dor era usualmente acompanhada por injúria tecidual, propondo que a produção de dano tecidual deveria ser o denominador comum para os diversos e variados estímulos que evocam dor. Sherrington criou o termo “nocicepção” para definir produção de estímulo nocivo através de injúria, sendo os receptores aferentes que detectam e sinalizam o estímulo nocivo, classificados como nocirreceptores. Este pesquisador também sugeriu que a função dos sistemas em responder aos estímulos nocivos é um mecanismo natural de defesa orgânica, e como são ativados anteriormente a ocorrência do dano tecidual, servem como sistemas de defesa, evitando muitas vezes a injúria (JONES, 1992).

Recentes avanços em pesquisas envolvendo dor têm caracterizado a anatomia, fisiologia, bioquímica e farmacologia dos sistemas que envolvem a dor, entretanto ainda não são completamente explicados (BEITZ, 1992; BONICA, 1992).

Vários mecanismos estão envolvidos na transmissão e na inibição da dor (LEWIS et al., 1980). A percepção da dor inicia-se através da ativação de nocirreceptores periféricos, distribuídos na superfície corpórea, divididos em três subtipos: mecanorreceptores de alto limiar, que respondem à pressão; receptores mecano-térmicos de baixo limiar, que respondem à pressão e ao calor, e receptores polimodais, que respondem à pressão, ao calor e a agentes químicos.

As vias de condução da dor podem ser descritas como um modelo de três neurônios, com o neurônio de primeira ordem originando-se na periferia e projetando-se para a medula espinhal (BEITZ, 1992). CLARK & CLARK (1999), relatam que o neurônio de segunda ordem ascende na medula espinhal e os de terceira ordem projetam-se no córtex cerebral e outras estruturas supra-espinhais. A dor pode ser classificada de acordo com sua localização anatômica ou significância fisiológica. A dor nociceptiva ou fisiológica é aquela produzida por estímulo nocivo (nociceptivo) de receptores especializados (nociceptores) inervados por fibras de

limiar alto como as fibras A-delta e fibras C, e alerta estruturas supra-espinhais para o risco de lesão tecidual potencial. A dor patológica ou clínica é causada por ativação contínua dos nociceptores por lesão tecidual já estabelecida ou lesão de regiões do sistema nervoso. Ambas as dores periférica e neuropática podem produzir alterações no sistema nervoso resultando em processos patológicos chamados alodinia (produção de dor por estímulo não doloroso) e hiperalgesia (resposta exagerada a um estímulo doloroso). A dor pode também ser classificada como periférica visceral ou somática. A dor visceral é de difícil localização enquanto a dor somática tem localização precisa. A dor somática pode ser ainda definida como dor superficial (pele) e dor profunda (articulações, músculo e periósteo). O conceito de dor superficial ou profunda não deve ser confundido com intensidade de dor já que somente se refere a localização anatômica da origem do estímulo doloroso. Independentemente da origem do estímulo doloroso, as fibras A-delta e fibras C estarão envolvidas na transmissão do estímulo elétrico, dependente da intensidade deste estímulo. A dor pode ainda ser do tipo neuropática que resulta de trauma, inflamação ou sensibilização de nervos periféricos ou da medula espinhal. A dor neuropática é descrita como uma dor intensa e que tem resposta pobre ao tratamento.

As vias de condução do estímulo nociceptivo, incluem ainda uma rede de terminações nervosas e conexões com outros neurônios e vias descendentes inibitórias com seus neurônios próprios partindo do mesencéfalo que modulam a transmissão aferente do estímulo doloroso (AIMONE, 1992).

O processo inicial para o reconhecimento do estímulo nociceptivo envolve a transdução de estímulos mecânicos, térmicos e químicos em impulsos elétricos por terminações nervosas especializadas chamadas nociceptores. Os nociceptores são receptores nas terminações nervosas livres dos neurônios primários aferentes e têm a função de reconhecer lesões teciduais potenciais. Os sinais captados pelos nociceptores são transmitidos por fibras de diâmetro reduzido e mielinizadas chamadas fibras A-delta que por suas características conduzem os impulsos elétricos de forma rápida, sendo responsáveis pela resposta do tipo dor aguda, ou dor primária. Fibras ainda menores, não mielinizadas chamadas fibras C são muito mais lentas na velocidade de transmissão e são responsáveis pelas chamadas dor secundária ou dor “lenta”, mas não podem ser confundida com dor crônica que envolve outros mecanismos. As fibras C são na realidade fibras complementares

para a resposta das fibras A-delta. Ambos os tipos de fibra são encontradas na pele, peritônio, pleura, periósteo, osso subcondral, cápsulas articulares, vasos sanguíneos, músculos, tendões, fáscia e vísceras. Os corpos celulares dos dois tipos de fibras estão localizados no gânglio da raiz dorsal, e enviam axônios para sinapses com os neurônios do corno dorsal da substância cinzenta da medula espinhal. É no corno dorsal que a integração e modulação do estímulo nociceptivo ocorre. Aferentes primários formam conexões diretas ou indiretas com uma das três populações de neurônios no corno dorsal, os interneurônios que podem ser excitatórios ou inibitórios, neurônios proprioespinais envolvidos no reflexo segmentar, e neurônios de projeção que se estendem para centros supraespinhais como o mesencéfalo ou o córtex. Estes neurônios de projeção são divididos em diversos tratos ascendentes, incluindo o trato espinotalâmico lateral, o trato espinomesencefálico, e o trato espinocervical. Estes neurônios fazem sinapse com neurônios de terceira ordem localizados em regiões da medula oblonga, ponte, mesencéfalo, tálamo, e hipotálamo, e córtex cerebral onde a dor é percebida. Estímulos dolorosos aferentes são submetidos a uma série de mecanismos inibitórios pelas vias modulatórias descendentes. A inibição ocorre dentro das estruturas corticais e talâmicas, do mesencéfalo, da medula rostral, do tronco cerebral, e do corno dorsal da medula espinhal (OHARA et al., 1988).

## **2.2. O Processamento Nociceptivo na Medula Espinhal**

O estímulo doloroso é transmitido à medula espinhal através de fibras A $\delta$  e C (KITCHELL, 1987). Estas estruturas de primeira ordem fazem sinapse com neurônios secundários na medula espinhal, liberando neurotransmissores e ativando neurônios chamados de segunda ordem no corno dorsal da medula. Neurônios específicos nociceptivos transmitem exclusivamente estímulo doloroso, e neurônios classificados como de “amplo alcance” transmitem sinais não dolorosos. Neurônios de segunda ordem ascendem da medula espinhal em múltiplos tratos que transmitem o estímulo ao cérebro. O trato espinotalâmico quantitativamente mais importante ascende na medula espinhal na substância branca ventral contra lateral ao sítio da estimulação (CLARK & CLARK, 1999). A ativação destes neurônios resulta em resposta de reflexo espinhal, ao passo que há ativação do trato ascendente, o qual transmite informação nociceptiva para níveis supraespinhais, completando a via nociceptiva (CLARK & CLARK, 1999; AIMONE, 1992).

Tem sido localizada substância P em fibras aferentes de pequeno diâmetro que terminam na área da substância gelatinosa (HOKFELT et al., 1975; TUCHSCHERER & SEYLBOLD, 1985). GO & YAKSH (1987) e HYLLEN & WILCOX (1981) demonstraram que a substância P é liberada da medula espinhal tanto “in vitro” quanto “in vivo”. HAMON et al. (1988) relatam também que outros neuropeptídeos são liberados dos neurônios primários aferentes após uma estimulação nociceptiva, que segundo CAMERON et al. (1988), a existência de múltiplos neurotransmissores no interior de uma única fibra, reforça a complexidade da neuro transmissão nociceptiva. Em adição aos neuropeptídeos, aminoácidos excitatórios como o glutamato e aspartato, também participam na transmissão nociceptiva (AANONSEN & WILCOX, 1988). SCHNEIDER & PERL (1985), demonstraram num estudo *in vitro* que aminoácidos excitatórios participam na mediação da transmissão nociceptiva rápida, enquanto que se acredita que neuropeptídeos mediam a transmissão nociceptiva lenta. Ambos os aminoácidos excitatórios e a substância P são liberados no corno dorsal da medula após um estímulo nocivo (SKILLING et al., 1988 e McCARSON & GOLDSTEIN, 1990). Esta citação é reforçada pelos achados de MURRAY et al. (1991), que produziram efeito analgésico e comportamental em um modelo de dor em ratos após a administração intratecal de antagonistas de aminoácidos excitatórios e substância P. A infusão de substância P no interior da medula espinhal incita a liberação de aminoácidos excitatórios, aumentando a transmissão sináptica (KANGRGA et al., 1990; SMULLIN et al., 1990).

Diferentes sistemas de receptores têm sido localizados no corno dorsal da medula espinhal, e muitos destes sistemas de receptores podem ter a função específica de modular a transmissão nociceptiva. A modulação pode ocorrer tanto por inibição da liberação de neurotransmissores das fibras primárias aferentes como por inibição da ativação de neurônios de segunda ordem no corno dorsal (NATALINI & ROBINSON, 2000).

### **2.3. Receptores de Adenosina**

Tem sido proposto que os receptores de adenosina estejam envolvidos na modulação da transmissão nociceptiva. Tem-se evidenciado envolvimento do componente de adenosina no efeito anti-nociceptivo da morfina. Injeção intratecal de

adenosina está associada à produção de anti-nocicepção moderada e à debilidade motora (SAWYNOK et al., 1986; SOSNOWSKI et al., 1989).

#### **2.4. Receptores Adrenérgicos**

O sistema adrenérgico está envolvido na modulação da transmissão nociceptiva devido à alta concentração de sítios de ligação para alfa-adrenérgicos encontrados na substância gelatinosa. Sítios de ligação para substâncias  $\alpha$ -2 adrenérgicas estão concentrados no corno dorsal da medula espinhal. Uma injeção intratecal de norepinefrina inibe o comportamento nociceptivo produzido pela substância P administrada igualmente pela via intratecal, indicando que a modulação pós-sináptica contribui para a ação antinociceptiva dos fármacos  $\alpha$ -adrenérgicos. A administração de agonistas  $\alpha$ -2 adrenérgicos deprime a atividade dos neurônios do corno dorsal. Agonistas noradrenérgicos ativam a liberação de substância P *in vivo* e *in vitro*. Esta inibição é revertida através de antagonistas  $\alpha$ -2 adrenérgicos como a fentolamina e yoimbina (PERT et al., 1975; GO & YAKSH, 1987).

#### **2.5. Receptores GABA (ácido $\gamma$ -aminobutírico)**

A administração intratecal de agonistas GABA produz efeito antinociceptivo. A administração espinhal de um agonista GABA-B, porém não GABA-A, tem mostrado modular o processo nociceptivo. Em contraste aos opióides e agonistas  $\alpha$ -2, GABA não tem mostrado inibir a liberação de substância P. Sendo assim, é sugerido que a propriedade antinociceptiva do ácido  $\gamma$ -aminobutírico, seja modular a descarga neuronal de segunda ordem do corno dorsal (GOODCHILD & SERRAO, 1987).

#### **2.6. Receptores Opióides**

Receptores opióides como  $\mu$ ,  $\delta$  e  $\kappa$  são encontrados no corno dorsal da medula espinhal, em neurônios de segunda ordem, pré e pós-sináptico. Opióides espinhais modulam a transmissão nociceptiva. Neuropeptídeos inibitórios como a dinorfina A, a metaencefalina e as encefalinas, são liberadas após estimulação nociceptiva. A liberação destas moléculas fornece substrato para se chegar a conclusão de que tenham efeito analgésico endógeno semelhante à morfina. A inibição da liberação de neurotransmissores pré-sinápticos pelos neurônios aferentes de pequeno diâmetro no interior do corno dorsal da medula, tem sido proposta como mecanismo de ação para agentes antinociceptivos espinhais. Ambos

opióides agonistas- $\mu$  e agonistas- $\delta$  inibem a liberação de substância P *in vivo* e outros neurotransmissores *in vitro*, sugerindo que opióides inibam múltiplos neurotransmissores primários envolvidos na transmissão da dor, sendo que há evidências de ação pré e pós-sináptica de opióides espinhais. Opióides agonistas inibem a descarga de neurônios de segunda ordem do corno dorsal da medula. A administração intratecal de um opióide agonista inibe o comportamento nociceptivo produzido pela administração intratecal de substância P, fornecendo evidências para que o mecanismo de ação seja pós-sináptico, sendo que tem se proposto que a morfina tenha efeito pré e pós-sináptico após administração sistêmica (ZIEGLGANSBERGER & BAYERL, 1976; ATWEH & KUCHAR, 1977; GO & YAKSH, 1987).

## **2.7. O Processamento Supra-espinhal da Informação Nociceptiva**

A informação nociceptiva é transmitida às estruturas supra-espinhais através do trato ascendente. Embora os neurotransmissores localizados no trato ascendente não sejam completamente conhecidos, a ativação de áreas supra-espinhais muito provavelmente seja mediada por aminoácidos excitatórios (JENSEN & YAKSH, 1992). HARMANN et al. (1988), acrescentam que a inervação colateral no trato descendente é responsável pela ativação simultânea de várias regiões cerebrais quando o estímulo nociceptivo ascendente for produzido.

A ativação de sítios supra-espinhais é necessária para a percepção da dor. Estes sítios que processam a informação nociceptiva recebem descargas aferentes e remetem para a via eferente. Muitos estudos têm mostrado que múltiplas áreas no cérebro contribuem para o sistema de inibição descendente. A morfina e os agentes derivados da morfina devem ativar os sistemas de inibição descendente de forma similar às encefalinas endógenas (YAKSH & RUDY, 1978).

## **2.8. A Modulação Descendente da Nocicepção**

Em 1858, Bernard demonstrou que a transmissão da informação aferente poderia ser modulada pelos sistemas supra-espinhais (AIMONE, 1988). Em gatos descerebrados, o reflexo de flexão aumenta significativamente após a trans-seção da medula espinhal, que faria a função de remover a influência inibitória do tônus pelo interneurônio (SHERRINGTON, 1915; FULTON, 1926). HUTCHINSON et al. (1990), demonstraram que o sistema de inibição descendente está envolvido na

antinocicepção e analgesia, uma vez que o reflexo espinhal nociceptivo e a apresentação comportamental por um estímulo nocivo, foram inibidos em ratos, gatos e macacos, e houve produção de analgesia no homem quando se administrou opióides na mesma estrutura cerebral.

Várias estruturas supra-espinhais do sistema nervoso central estão envolvidas na modulação descendente da nocicepção, como o diencéfalo, o mesencéfalo, a ponte e a medula (AIMONE, 1992; JONES, 1992). A ascensão do estímulo nociceptivo através da medula espinhal é necessária para a ativação endógena dos sistemas de inibição descendente, todavia, não se sabe se diferentes estímulos nociceptivos são capazes de ativar diferentes regiões supra-espinhais que regulariam diferenciadamente a modulação do estímulo (AIMONE, 1992). Este mesmo autor relata que diferentes regiões do cérebro podem agir independentemente através da emissão de estímulo diretamente à medula espinhal, ou então para outro núcleo nervoso. Em um estudo onde se utilizaram antagonistas para receptores específicos pela via intratecal, AIMONE (1992), demonstrou que componentes noradrenérgicos e serotoninérgicos estão envolvidos na inibição da nocicepção em vários sítios de regiões supra-espinhais. HEADLEY et al. (1978) e RANDIC & YU (1978) relataram que há envolvimento da norepinefrina e serotonina na modulação da transmissão da nocicepção e na inibição da excitação do corno dorsal neuronal.

Diversos peptídeos e neurotransmissores também foram localizados no periaqueduto cinza, incluindo encefalinas, dinorfina, neurotensina, substância P e outras (ELDE, et al., 1976; REICHLING, et al., 1988). O primeiro relato de que o periaqueduto cinza seria a primeira estrutura cerebral envolvida na analgesia promovida pela morfina foi proposto por TSOU & JANG (1964), que investigaram os possíveis sítios de ação da morfina quando administrada através de microinjeção intracerebral. BENNETT & MAYER (1979) e JONES & GEBHART (1988) também demonstraram através da administração de morfina no periaqueduto cinza, que esta foi capaz de inibir o corno dorsal. Já FIELDS & BASBAUM (1978) relataram a presença de receptores opióides  $\mu$ ,  $\delta$  e  $\kappa$  nesta região do SNC, sendo novamente comprovada a expressão destes receptores por JENSEN & YAKSH (1986), quando utilizaram agonistas seletivos no periaqueduto cinza.

O sistema de modulação descendente da dor é um complexo mecanismo de inibição do estímulo nociceptivo ascendente, entretanto, as estruturas supra-

espinhais não são capazes de reconhecer o potencial de agressão deste estímulo. O tratamento da dor aguda e crônica ainda é um dos maiores desafios que clínicos e pesquisadores são confrontados, e uma vez que os opióides são os fármacos analgésicos mais potentes e com maior duração de efeito que se conhece, e com base no fato de que receptores opióides são componentes do sistema de inibição nociceptiva descendente, a investigação extensiva desta classe farmacológica é de importância incontestável.

### **2.9. Fármacos Opióides em Cavalos**

Fármacos opióides com diferentes classificações em relação ao sítio de ação estão indicados para uso clínico em cavalos. Em síntese, a classificação poderia ser realizada em opióides agonistas- $\mu$  puros, a exemplo da morfina; em opióides agonistas/antagonistas, que tem a propriedade de produzirem efeito agonista em um determinado tipo de receptor opióide e de antagonizar por completo outro tipo de receptor, a exemplo da buprenorfina; e de opióides agonistas- $\mu$  e antagonistas do NMDA (CHIZH et al., 2000).

Reporta-se que a administração sistêmica de opióides em cavalos tem o potencial de produzir excitação do SNC em contraste à sedação no homem e no cão. Tanto a excitação do SNC como excitação simpática tem sido citada com diferentes opióides derivados da morfina. Doses que produzem analgesia cutânea no cavalo aumentam a frequência cardíaca e respiratória, produzem midríase e hipertermia, além de aumentarem a atividade locomotora. Opióides agonistas- $\mu$  como a morfina e fentanil aumentam a atividade dopaminérgica da substância nigra, do centro de atividade locomotora no SNC, que pode ser reduzida com um antagonista de receptor dopaminérgico como a acepromazina (COMBIE et al., 1979; KARMEILING et al., 1985). TOBIN (1981) relata que os receptores opióides no SNC são responsáveis pelo aumento da atividade locomotora no cavalo. Quando um antagonista do receptor opióide como o naloxone é administrado pela via intravenosa no cavalo, não há aumento na atividade locomotora após um opióide agonista  $\mu$  como a morfina e fentanil.

Analgésicos opióides não são comumente utilizados em cavalos pela via sistêmica para alívio da dor devido à excitação do SNC. Butorfanol, um opióide agonista- $\kappa$  e antagonista- $\mu$ , têm o potencial de produzir marcado aumento da atividade locomotora quando administrado pela via intravenosa em cavalos (NOLAN

et al., 1994). Em outro estudo, KAMERLING et al. (1988) demonstraram que o opióide  $\kappa$ -seletivo U50488H produziu analgesia de curta duração sem excitação em cavalos.

Analgesia profunda é obtida quando se utiliza uma associação de um opióide a um sedativo como a xilazina ou acepromazina pela via sistêmica em cavalos. Os sedativos diminuem as chances de ocorrência de excitação do SNC (HUBBELL & MUIR, 1994). Várias associações de opióides e sedativos têm sido sugeridas para uso no cavalo, variando em potência de efeito analgésico em relação ao opióide utilizado e grau de sedação (KLEIN & BAETJER, 1974; CLARKE & PATON, 1988; CLARK et al., 2005; CORLETTO et al., 2005).

## **2.10. Fármacos Opióides Espinhais**

A anestesia e a analgesia espinhal têm sido descritas em humanos e animais desde que foi relatado seu uso em 1901 (KLIDE, 1992). GÓMEZ DE SEGURA et al. (1998) relatam que estas técnicas têm sido reportadas para promover analgesia efetiva para injúrias ortopédicas ou em tecidos moles em muitas espécies, e os efeitos da administração espinhal de agonistas alfa-2, agentes dissociativos e anestésicos locais, isolados ou em associações, vêm sendo avaliados em cavalos (SKARDA & MUIR, 1996; NATALINI & ROBINSON, 2000; OLBRICH & MOSING, 2003; De ROSSI et al., 2004). A administração espinhal de opióides e agonistas alfa-2, comparada com o uso IM ou IV, apresentam vantagens como efeito prolongado e redução na incidência ou na severidade da sedação (SKARDA & MUIR, 1996).

VALVERDE et al. (1990), utilizaram morfina pela via epidural para o tratamento de dor somática intensa em um membro posterior de uma égua, sendo este o primeiro relato do uso epidural para fins clínicos na espécie eqüina. Os autores relataram que o processo doloroso era refratário a analgésicos sistêmicos, e que foi controlado com sucesso com a utilização de morfina epidural.

Mais tarde, em 1994, um estudo controlado comprovou que a utilização de 0,05 a 0,1mg/kg de morfina epidural produziu analgesia segmentar em cavalos, caracterizada por sedação sem ataxia, sendo que a dose mais elevada produziu rápido início de ação, longa duração e difusão cranial, atingindo mais dermatômeros craniais do que doses mais baixas. Os ramos nervosos dorsais do plexo lombosacro foram preferentemente mais afetados do que os ramos ventrais pelas duas doses de morfina estudadas (ROBINSON, 1994).

Analgesia espinhal pode ser obtida com diferentes fármacos (VALVERDE et al., 1990; SKARDA, 1996; GOMEZ DE SEGURA et al., 1998). Quando comparado com outros fármacos, os opióides apresentam a vantagem sobre agentes anestésicos locais e agonistas alfa-2 devido a não ocorrência de bloqueio simpático e envolvimento motor (SINATRA et al., 1992; STOELTING, 1999).

Em pacientes humanos, depressão respiratória é citada após a administração epidural de agentes opióides (COUSINS & MATHER, 1984, SINATRA et al., 1992; STOELTING, 1999). Outras complicações em pessoas são náuseas, vômito, prurido, retenção urinária, sonolência, excitação do SNC e retenção hídrica (SINATRA et al., 1992). A administração epidural de 0,05mg/kg ou 0,1mg/kg de morfina produz sedação e analgesia intensa prolongada em cavalos, sendo que não são reportadas alterações fisiológicas marcadas nas funções cardiovasculares, respiratória e gastrointestinal. Depressão respiratória tardia, que comumente é observada no paciente humano, também não tem sido citada após a administração espinhal de opióides em pequenos e grandes animais (PABLO, 1993; PADDLEFORD, 1999).

Associação para uso epidural de morfina com detomidina, um agonista alfa-2, foi utilizada para o tratamento de sinovite induzida por anfoterecina-B em um modelo de dor articular tarso-crural em cavalos. Os autores concluíram que houve um significativo decréscimo nos escores de dor avaliados após o tratamento com morfina e detomidina epidural, sugerindo que a combinação produz profunda analgesia em cavalos (SYSEL et al., 1996). Em outro estudo experimental controlado, morfina epidural decresceu a concentração alveolar mínima (CAM) do halotano em pôneis quando um estímulo nocivo foi aplicado aos membros pélvicos, porém, não reduziu a CAM quando o estímulo foi aplicado nos membros torácicos. No mesmo estudo, butorfanol epidural não produziu trocas na CAM (DOHERTY, et al., 1997).

### **2.11. Modelos de Dor em Cavalos**

Primeiramente, para a avaliação de fármacos analgésicos e técnicas de analgesia em animais, é necessária a seleção de um modelo de dor sensível, específico e objetivo. No cavalo especificamente, a avaliação de analgésicos e percepção da dor tem sido uma dificuldade, devido à natureza e o porte desta espécie.

Vários modelos de dor têm sido sugeridos para avaliar dor somática e visceral em cavalos (PIPPI & LUMB, 1979; SZABUNIEWICS & SZABUNIEWICS, 1975). MATHEWS (1992) sugeriu um critério que deveria ser considerado anteriormente à avaliação de dor quando se utiliza um modelo. O estímulo e a resposta devem ser avaliados na sua magnitude; a resposta deve ser rápida e repetida; o modelo deve ser eticamente aceito e o estímulo algico produzido deve ser o mínimo necessário para produzir resposta repetida; a resposta ao estímulo deve ser relacionada à espécie, por exemplo, um modelo que requeira vocalização, deve ser muito intenso para utilização no cavalo. Este autor, também sugeriu que os modelos de dor podem ser divididos em invasivos, requerendo implantação cirúrgica de algum dispositivo ou trauma permanente em tecidos corpóreos do animal, ou não invasivos, que não requerem procedimento cirúrgico ou alteração permanente do animal.

O balão para cólica, é um modelo de dor visceral que é reportado, e foi utilizado experimentalmente por muito tempo. Este modelo utiliza uma fístula cecal na qual um balão é inserido e inflado. Quando a pressão do ceco aumenta, o cavalo mostra sinais de desconforto e dor. Neste modelo, o observador registra o escore de dor em uma escala subjetiva de avaliação, o que passa a ser uma desvantagem deste modelo (LOWE, 1969; LOWE, 1978). LOWE et al. (1980), descrevem outro modelo experimental de cólica, a impactação da flexura pélvica. Neste, há a criação de uma fístula na flexura pélvica e a impactação era induzida pela obstrução parcial através da adaptação de um balão de borracha de 1 litro, fixado no local da fístula. Este método foi utilizado em investigações em que se avaliaram os efeitos analgésicos da xilazina, fentanil, meperidina, oximorfona, pentazocina, flunixin meglumine, dipirona e detomidina (LOWE, 1969; PIPPI et al., 1979; LOWE et al., 1980; LOWE & HILFIGER, 1986).

Modelos de dor somática superficial em cavalos têm sido descritos. Um modelo de calor por luz radiante sobre uma área a ser testada na superfície lateral do membro anterior, quando o tempo de resposta for mensurado com a utilização de um acelerômetro (PIPPI et al., 1979). Esta técnica requer que o cavalo não se movimente, e não deve ser utilizado para avaliar analgésicos que possam produzir aumento da atividade motora (KAMERLING, et al. 1989). Os mesmos autores relatam outra variante com o modelo utilizando calor, que pode haver movimentos de contração muscular da pele devido à desidratação da região, ocasionando contração da musculatura subcutânea. Outra variação da utilização do modelo com

a utilização de calor foi relatada em eqüinos por KAMERLING et al. (1985). Estes autores desenvolveram uma unidade manual utilizando uma lâmpada de projeção incandescente de 500 watts. O raio de luz foi focado através de uma lente condensadora, formando uma imagem de luz intensa de 2,5cm<sup>2</sup>, aproximadamente a 24,5cm da lente. O foco de luz foi aplicado na região da articulação metacarpofalangeana, sendo o reflexo de retirada do membro o padrão para a interrupção da aplicação do calor.

Um método muito simples para a avaliação de dor superficial é o estímulo cutâneo com uma agulha (KERR et al., 1972). A maior dificuldade com este método é a limitação do estímulo repetido, podendo causar um traumatismo produzindo uma resposta condicionada, associado à dificuldade de quantificação do estímulo (MATHEWS, 1992).

BARANGE et al. (1988), descreveram um modelo de laminite reversível como sendo um método não invasivo, utilizando uma bota compressiva ajustável para avaliação dos efeitos analgésicos de fármacos antiinflamatórios não esteróides.

A utilização de técnicas com corrente elétrica tem sido descritas em três modelos experimentais. Um, é a estimulação elétrica da membrana mucosa oral, para determinar a concentração alveolar mínima de enflurano, halotano e isoflurano, propondo-se uma exposição de 60 segundos com uma configuração de 50V, 5Hz e 10ms, e na presença de movimento intencional, considera-se resposta positiva, sendo ajustada a concentração do agente anestésico (STEFFEY et al., 1977). JOCHLE & HAMM (1986) citam outro modelo, colocando eletrodos na coroa do casco, conectados a um estimulador elétrico com aferição constante da corrente elétrica, quando mensura-se a corrente elétrica mínima capaz de produzir reação de levantamento do membro que possui os eletrodos conectados. O terceiro modelo descrito com a utilização de estimulação elétrica é a estimulação dos dermatomos cutâneos. ROBINSON (1994) utilizou este modelo para avaliação dos efeitos analgésicos da morfina epidural 0,05mg/kg e 0,1mg/kg em cavalos, sendo o estímulo elétrico aplicado em dois eletrodos distanciados em 10 cm, iniciando-se com estímulo de 10 volts e aumentando em incrementos de 10 volts até ser visualizada resposta, aplicando-se um estímulo máximo de 80 volts. NATALINI & ROBINSON (2000) utilizaram um modelo de estimulação elétrica dos dermatomos, perineais, sacrais, lombares e torácicos para a investigação dos efeitos anagésicos

de diversos opióides pela via epidural, mostrando ser este um método consistente como modelo de dor em cavalos.

Modelos avaliando a intensidade da dor somática têm sido utilizados em cavalos. A implantação cirúrgica de um eletrodo monopolar na dentina de cavalos foi proposta por BRUNSON et al. (1987), quando um estímulo único com duração de 2ms repetido em intervalos de 20 segundos foi utilizado para produzir reflexo de retirada da cabeça, quando se considerou resposta positiva ao estímulo de baixa corrente a repetição de três movimentos de retirada da cabeça. Esta técnica foi utilizada para a avaliação dos efeitos analgésicos de 1,1mg/kg de cloridrato de xilazina pela via intravenosa.

Laminite também tem sido citada como modelo de dor somática profunda em cavalos, sendo produzida através da injeção intra-articular de ácido hialurônico ou anfoterecina-B. A efetividade na redução da laminite foi avaliada respectivamente através da análise da eficácia e dos escores de dor (SYSEL, 1996).

## **2.12. Modelos Experimentais “*in vitro*”**

Poucos são os relatos da utilização de modelos *in vitro* para investigações científicas envolvendo o uso de fármacos anestésicos e/ou analgésicos pela via espinhal.

A distribuição da substância analgésica no interior do espaço subaracnóide é um dos fatores determinantes para o sucesso da anestesia ou analgesia espinhal, sendo que modelos *in vitro* podem ser utilizados para a investigação dos fatores que afetam a distribuição do anestésico no líquido cérebro-espinhal, podendo servir de base para a utilização posterior uso clínico (ROBINSON et al., 1994). Estes autores, desenvolveram um modelo espinhal plástico simulando o espaço subaracnóide, a medula espinhal e a cauda eqüina da espécie humana, sendo este modelo preenchido por Ringer com lactato de sódio com gravidade específica de 1005 g/mL, onde no qual foram realizadas sucessivas injeções de anestésico local com baricidade fixada em 1037 e coradas com azul de ftalocianina, sendo utilizado um modelo de processamento digital de imagem da difusão das injeções no modelo.

McELLISTREM et al. (1993), relataram a utilização de um modelo *in vitro* para a determinação da permeabilidade da dura-máter de seres humanos à opióides e anestésicos locais, através da confecção de um aparato constituído de duas câmaras de vidro separadas por uma porção de dura-máter de 3cm<sup>2</sup> e preenchidas

com líquido cérebro-espinhal artificial com a mesma osmolalidade do líquido cérebro-espinhal. A permeabilidade foi testada a partir da administração do agente analgésico na câmara “A” e em tempos pré-determinados, os autores coletaram amostra na câmara “B”, realizando a cromatografia e a determinação da difusão das substâncias através da dura-máter.

Modelos *in vitro* também têm sido utilizados para a investigação dos efeitos anatômicos produzidos diretamente sobre a dura-máter humana após cateterização acidental do espaço subaracnóide. ANGLE et al. (2004), montaram um modelo subaracnóide em uma base fixa submetido à pressão artificial semelhante à pressão do espaço subaracnóide, e após cateterização com diferentes tipos de agulhas epidurais, descreveram as alterações anatômicas da dura-máter e as possíveis complicações da cateterização acidental do espaço subaracnóide.

Em Medicina Veterinária, não há relatos da utilização de modelos espinhais e/ou subaracnóide em cavalos servindo como base para determinação de características físicas de substâncias analgésicas administradas pela via epidural ou subaracnóide.

### **2.13. Substâncias hiperbáricas para analgesia espinhal**

Soluções de opióides hiperbáricos não são comumente utilizados para analgesia espinhal. Uma extensa pesquisa no indexador *Pubmed* não informou nenhum relato do uso de opióide hiperbárico na espécie humana ou em alguma espécie animal. Na espécie humana, a utilização de fármacos anestésicos locais ou associações destes com opióides vem sendo utilizada para fins clínicos, com características clínicas que muitas vezes tornam a técnica vantajosa sobre àquelas em que se utilizam anestésicos locais isobáricos.

KUUSNIEMI et al. (2000), compararam os efeitos da utilização de bupivacaína isobárica versus bupivacaína hiperbárica (com adição de dextrose a 9%) para a produção de anestesia espinhal unilateral no membro inferior de seres humanos submetidos à procedimento ortopédico, chegando a conclusão que tanto a bupivacaína isobárica quanto a hiperbárica foram alternativas satisfatórias para promover anestesia, sendo que no grupo hiperbárico, a anestesia unilateral teve maior sucesso.

Em um outro estudo, RICHARDSON et al. (1998), estudaram os efeitos da associação de morfina com bupivacaína isobárica versus bupivacaína hiperbárica

pela via intratecal, em trinta mulheres submetidas à cesariana, chegando à conclusão que a diferença na baricidade dos agentes espinhais produz diferença na distribuição dos analgésicos no espaço subaracnóide, uma vez que as respostas clínicas da associação de bupivacaína hiperbárica com morfina foram superiores à associação isobárica. Os mesmos autores sugerem neste trabalho que mais estudos envolvendo anestésicos hiperbáricos sejam realizados em pacientes não parturientes, uma vez que a gravidez pode de alguma forma, ter influenciado na distribuição dos agentes no espaço intratecal.

### 3. MATERIAL E MÉTODO

A fase experimental desta pesquisa foi realizada no Laboratório de Pesquisa em Eqüinos da “Louisiana State University, School of Veterinary Medicine, Department of Veterinary Clinical Sciences, Veterinary Anesthesiology and Pain Management”, da Universidade da Louisiana – EUA, sendo aprovada para execução pelo comitê de ética desta instituição.

A pesquisa foi realizada em duas fases distintas, “*in vitro*” e “*in vivo*”, conforme metodologia descrita a seguir.

#### 3.1. Fase “*in vitro*”

A primeira etapa do estudo “*in vitro*” constou da determinação da densidade de amostras não diluídas de morfina, buprenorfina, metadona, hidromorfona e fentanil; e da densidade de soluções de glicose a 5% e 10%. Posteriormente, realizou-se a diluição de tais opióides com solução de cloreto de sódio a 0,9% para a obtenção de soluções isotônicas e glicose a 5% e 10% para as soluções hipertônicas. Para a diluição, utilizou-se 5mg de morfina a 2,5%; 0,5mg de buprenorfina a 0,03%; 5mg de metadona a 1%, 5mg de hidromorfona a 0,25% e 0,5mg de fentanil a 0,005% acrescido de cloreto de sódio a 0,9%, glicose a 5% ou glicose a 10% até se alcançar o volume total de 5mL. Tais diluições foram coradas com a adição de 0,1mL de azul de metileno a 100%, e então, determinou-se a densidade das soluções isotônicas e hiperbáricas por refratometria, em sala com temperatura controlada em 22°C. As diluições hiperbáricas realizadas com glicose a 5% e 10% que apresentaram densidade maior ou igual a 1030 foram escolhidas para o teste *in vitro*. A escolha dos agentes opióides utilizados baseou-se nos diferentes mecanismos de ação dos grupos de opióides com propriedades agonista- $\mu$  puro; agonista/antagonista e agonista- $\mu$ /antagonista do NMDA.

Para a observação da difusão dos diferentes opióides hiperbáricos selecionados para a segunda etapa da fase “*in vitro*”, confeccionou-se um modelo experimental do espaço subaracnóide de um cavalo adulto, utilizando-se uma coluna de PVC (policloreto de vinila) transparente<sup>a</sup>, medindo 165cm de comprimento X 2,5cm de diâmetro, montada 115cm na posição horizontal e 50cm na posição vertical em ângulo de 130°, com capacidade de albergar 600mL de líquido cérebro-

---

<sup>a</sup> Clear rigid PVC tube, Harvel Plastics, Inc., Easton, PA, USA.

espinhal (LCE), graduado com uma escala em centímetros estendendo-se 150cm a partir do ponto onde foi adaptado um cateter subaracnóide 19G, colocado a 10cm da extremidade horizontal do modelo, por onde foram infundidas as soluções testadas. Como modelo de medula, um segmento de silicone com 1,2cm de diâmetro foi adaptado no interior da coluna de PVC mimetizando a medula espinhal, realizando-se após o fechamento vedado da extremidade horizontal do modelo (Figura 1).



Figura 1 – Duas unidades do modelo experimental subaracnóide de PVC transparente fixados em bancada.

Uma vez fixado em uma bancada, o modelo foi preenchido com LCE coletado de cavalos sacrificados para fins de pesquisa no setor de Patologia da Universidade do Estado da Louisiana. Foram realizadas sucessivas coletas de LCE, sendo o mesmo armazenado em refrigeração a 4°C em bolsas plásticas com capacidade de 500mL destinadas para armazenamento de plasma, sendo aquecido em banho-maria a 37°C previamente ao preenchimento da coluna de PVC, e mantido a esta temperatura durante o experimento com a utilização de uma manta com água circulante aquecida. Previamente ao preenchimento do modelo com o LCE aquecido, foi realizada a determinação da densidade do mesmo, objetivando a confirmação da utilização de fluídos com mesma densidade.

As soluções isobáricas e hiperbáricas dos opióides, coradas com azul de metileno e estabilizadas a 22°C, foram injetadas no modelo através de infusão contínua com a utilização de uma bomba à seringa<sup>b</sup>, a uma taxa de 0,5mL/minuto,

<sup>b</sup> Medfusion 2010i, Medex Inc., Cheshire, CT, USA.

num volume total de 5mL, através do cateter avançado até 10cm cranial ao ponto de introdução no modelo, simulando a cateterização subaracnóide realizada *in vivo*.

Durante a infusão das soluções testadas, observou-se o comportamento das mesmas em relação à característica de difusão no LCE, e imediatamente após o término da infusão e a cada minuto, registrou-se a distância alcançada pelas soluções. Após cada teste realizado com a infusão das soluções, o modelo foi drenado e preenchido com novo LCE.

### **3.2. Fase “*in vivo*”**

#### **3.2.1. Desenho experimental**

Foram utilizados seis cavalos adultos, com idade estimada entre oito e doze anos, quatro machos e duas fêmeas, sem raça definida, com peso médio de  $466 \pm 69$ kg, provenientes da fazenda da Universidade do estado da Louisiana/EUA. Previamente ao experimento, tais animais foram submetidos a exame clínico detalhado, quando se coletou amostras de sangue, do qual se realizou avaliação hematológica e bioquímica para a obtenção de unidades experimentais uniformes e confirmação da higidez. Tais cavalos foram mantidos em estábulos individuais durante o período da pesquisa, com oferecimento de água *ad libitum* e nutrição balanceada. Os cavalos foram randomizados para designação da repetição dos tratamentos a serem investigados, sendo que todos os animais receberam os diferentes opióides hiperbáricos estudados e glicose a 10% (controle).

Os agentes foram administrados pela via subaracnóide em intervalos de cinco dias, sendo que o registro dos dados avaliados foi realizado por um avaliador que não tinha conhecimento prévio da substância em teste, configurando um estudo “cego”.

A mensuração dos parâmetros monitorados foi realizada imediatamente antes da injeção subaracnóide (momento basal), aos 10, 20, 30, 40, 50, 60, 90, 120, 150 e 180 minutos após a injeção subaracnóide do opióide hiperbárico em teste e da glicose a 10%, com exceção das variáveis hemogasométricas arteriais, que foram avaliadas no momento basal, aos 90 e 180 minutos.

### 3.2.2. Cateterização subaracnóide

A cateterização subaracnóide foi realizada 48 horas antes da experimentação, em tronco de contenção apropriado, estando os cavalos em jejum sólido de 12 horas e hídrico de 4 horas, quando foram sedados com cloridrato de xilazina<sup>c</sup> na dose de 1mg/kg IV, realizando-se a cateterização subaracnóide segundo NATALINI & ROBINSON (1999), descrito a seguir. Os cateteres subaracnóides foram mantidos por patentes por 6 dias para a realização dos 3 agentes hiperbáricos testados.

A determinação da região anatômica a ser preparada para a cateterização subaracnóide foi determinada através da palpação da borda caudal da tuberosidade coxal, da borda cranial e da depressão e depressão na linha média entre a sexta vértebra lombar e a segunda vértebra sacral. Com o cavalo sedado em estação, realizou-se a tricotomia da região lombo-sacra, sendo esta higienizada com escova cirúrgica contendo iodo povidona para posterior anti-sepsia com dupla repetição de álcool iodado. Seqüencialmente, procedeu-se bloqueio local da pele, tecido subcutâneo, musculatura da região lombo-sacra, ligamento supra espinhoso e ligamento inter-espinhoso por meio da infiltração de 10mL de lidocaína (20mg/mL) com epinefrina (0,005mg/mL). Passados 10 minutos, realizou-se nova anti-sepsia para a cateterização subaracnóide.

Para a realização da técnica foi utilizado um “kit” para cateterização espinhal<sup>d</sup> do qual se utilizou campo cirúrgico fenestrado, máscara facial, luva cirúrgica, cateter de poliuretano e adaptador para a extremidade do cateter. Após cobrir a pele da região a ser manipulada, introduziu-se uma agulha epidural de Tuohy<sup>e</sup> (17G, 17,78cm, com parede fina e mandril) perpendicularmente ao longo do plano médio do espaço intervertebral, até que o espaço subaracnóide fosse alcançado. Para a confirmação do acesso ao espaço subaracnóide com a agulha espinhal, o mandril foi removido e uma amostra de LCE foi aspirada com uma seringa estéril, quando se determinou a densidade do LCE por refratometria<sup>f</sup>. Depois de apropriado posicionamento da agulha, o bisel desta foi direcionado cranialmente, quando então se introduziu o cateter de poliuretano flexível<sup>g</sup> (19G, 99,4cm), avançando com o mesmo 20cm cranialmente no espaço subaracnóide. A agulha epidural foi removida,

---

<sup>c</sup> Xylazine, Fort Dodge Laboratories Inc., Fort Dodge, Iowa, USA.

<sup>d</sup> BD Procedure Tray PN-121-A, Becton-Dickinson Infusion Therapy Systems Inc., Sandy, Utah, USA.

<sup>e</sup> Agulha de Tuohy reutilizável de parede fina, Becton-Dickinson Rutherford, NJ, USA.

<sup>f</sup> Refratômetro, Jorgensen Laboratories Inc., Loveland, CO, USA.

<sup>g</sup> Theracath epidural catheter, Arrow International Inc., Reading, PA, USA.

e após a adaptação do conector na extremidade do cateter, o mesmo foi fixado na pele através de uma sutura e protegido com compressas de gaze cobertas por um campo adesivo antimicrobiano<sup>h</sup>. O cateter foi “lavado” com uma solução salina (NaCl 0,9%) heparinizada com 10UI/mL de heparina, e mantido patente durante todo o período do experimento, sendo utilizada a mesma solução para realizar a “lavagem” dos cateteres.

### 3.2.3. Administração subaracnóide dos opióides hiperbáricos e glicose a 10%

Para o grupo controle, utilizou-se uma injeção de subaracnóide de 5mL de glicose a 10%<sup>i</sup> sem opióide.

Os opióides utilizados na fase *in vivo*, foram Morfina<sup>j</sup> (5mg), Buprenorfina<sup>k</sup> (0,5mg) e Metadona<sup>l</sup> (5mg), acrescidos de glicose a 10% até perfazer um volume total de 5mL.

Determinou-se a densidade do líquido cérebro-espinhal e, as soluções com gravidade específica superior ao do líquido cérebro-espinhal foram consideradas hiperbáricas em relação a este.

A dose utilizada pela via subaracnóide dos opióides foi aproximadamente 1/10 da dose recomendada pela via intravenosa em cavalos, sendo que a escolha pelos opióides estudados baseou-se nos resultados do estudo *in vitro* e nas propriedades farmacológicas de cada agente, em síntese, a morfina por ser o agente opióide analgésico padrão em diversas técnicas, a metadona devido à similaridade da sua solubilidade lipídica em relação à morfina; e a buprenorfina pelo longo tempo de ação.

Anteriormente à administração dos opióides a serem testados, preparou-se um equipamento de emergência destinado para uma eventual necessidade de intubação orotraqueal e ventilação artificial, ficando este montado e pronto para uso. Com os cavalos em estação na baia de contenção do Laboratório de Pesquisa, realizou-se a administração da glicose a 10% e dos opióides hiperbáricos através da injeção lenta do volume padrão de 5mL ao longo de aproximadamente 5 minutos, através da adaptação da seringa ao conector do cateter subaracnóide. Durante a

---

<sup>h</sup> Ioban 2, 3M Health Care, St. Paul, MN, USA.

<sup>i</sup> Dextrose 10%, The Butler Company, Dublin, OH, USA.

<sup>j</sup> Infumorph®, Elkin-Sinn, Cherry Hill, NJ, USA.

<sup>k</sup> Buprenex 0,3mg/mL, Reckitt and Coleman Pharmaceuticals Ltd., Richmond, VA, USA.

<sup>l</sup> Methadone Hydrochloride 10mg/mL, Alpharma Inc., Lincolnton, NC, USA.

injeção subaracnóide, um avaliador observou se houve ocorrência de alterações comportamentais dos cavalos. Ao término da injeção, deu-se início a contagem do tempo para mensuração dos momentos de avaliação.

#### **3.2.4. Modelo de estímulo de dor e avaliação analgésica**

Como modelo de dor, foi utilizada estimulação elétrica com produção de dor somática através de Estimulador Elétrico específico<sup>m</sup>.

Dois cliques de eletrodos foram manualmente colocados, distanciados em 5cm entre si, nos dermatômos da região perineal, sacral, lombar e torácica do lado esquerdo dos cavalos, e a série de estimulação de 10 a 80volts, 50Hz e 10ms duração foi aplicada para a avaliação da analgesia. A voltagem foi aumentada em incrementos de 10volts, e considerou-se resposta positiva intencional ao estímulo o primeiro movimento voluntário de manifestação de reação ao estímulo elétrico, como movimentação da cauda, membros, tronco e voltar a cabeça para o ponto de estimulação. A última voltagem que não produziu reação foi registrada, e considerada como limiar máximo de estímulo aquele momento do opióide em teste. Aos níveis de voltagem acima de 40volts se considerou completa analgesia, comparado a uma incisão de pele.

Os dermatômos cutâneos das áreas inervadas pelos nervos torácico, lombar, sacral e coccígeo foram mapeados conforme descrito por SKARDA & MUIR (1983) e SCHELLING & KLEIN (1985). O dermatômo torácico, inervado pelo ramo espinal torácico, foi numerado a partir da contagem caudo-cranial a partir da 18ª vértebra torácica (T18) até a 8ª vértebra torácica (T8). O dermatômo lombar, inervado pelo ramo ventral do primeiro par nervoso espinal lombar (L1) foi designado como número 7. A região inervada pelo ramo ventral do nervo espinal da segunda vértebra lombar (L2) foi designado como número 6. A região inervada pelos nervos espinais 1 ao 6 (ramo dorsal da L1-L6) foi numerado como 9. A área inervada pelo nervo lombar 3 (ramo ventral da L3) foi designada como número 5. O dermatômo sacral, inervado pelos nervos sacrais espinais 1 a 5 (ramos dorsais da S1 a S5) foi numerado como 3. A região na área sacral, inervada pelos nervos espinais da L6 e 1ª e 2ª sacrais (ramo ventral da L6-S2) foi designada como número 4. O dermatômo perineal inervado pelo nervo coccígeo caudal (Co) foi numerado como dermatômo 1.

---

<sup>m</sup> Grass S88 stimulator, Astro-Med Inc., West Warwick, RI, USA.

O dermatomo 2 foi padronizado como sendo a área inervada pelos ramos ventrais da L2 e L3, e o ramo dorsal da L1-L6. Para a interpretação dos resultados, os dermatomos torácicos foram considerados sendo T8-T18; dermatomos lombares, 5, 6, 7 e 9; dermatomos sacrais, 3 e 4; e dermatomos perineais, 1, 2 e 8. As figuras 2 e 3, representam respectivamente, o aspecto lateral e caudal do mapeamento dos dermatomos utilizados neste estudo, conforme descrito anteriormente.

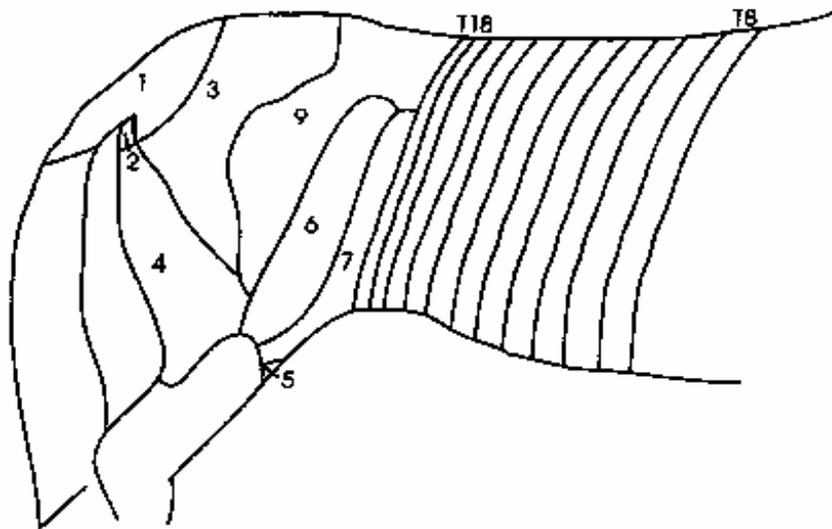


Figura 2 – Aspecto lateral do dermatomo perineal (1, 2, 4 e 8), sacral (3), lombar (5, 6, 7 e 9) e torácico (T8 a T18).

### 3.2.5. Parâmetros Cardiorrespiratórios, Hemogasométricos e Distância da Cabeça em relação ao solo

A mensuração da frequência cardíaca, frequência respiratória, pressão arterial sistólica, pressão arterial diastólica e pressão arterial média, foram realizadas através de um monitor multiparamétrico<sup>n</sup>, com a colocação de um manguito na base da cauda dos cavalos para a monitoração da frequência cardíaca e da pressão

<sup>n</sup> Datascope Passport 2, Datascope, Montvale, NJ, USA.

arterial. Para a mensuração da frequência respiratória, fixou-se um sensor do monitor na pele da região torácica dos animais.

Para a determinação da altura da cabeça em relação ao solo, fixou-se uma fita métrica com escala em centímetros junto a uma haste colocada próximo a cabeça do cavalo, tomando-se como referência a distância do mento até o solo.

A realização de hemogasometria arterial foi realizada através da utilização de equipamento portátil<sup>o</sup> para este fim, pelo qual se determinou as variáveis arteriais pH, pCO<sub>2</sub>, pO<sub>2</sub>, HCO<sup>3</sup>, SatO<sub>2</sub>, Na<sup>+</sup>, K<sup>-</sup>, iCa<sup>+</sup> com a utilização de um kit descartável individual para cada exame hemogasométrico<sup>p</sup>.

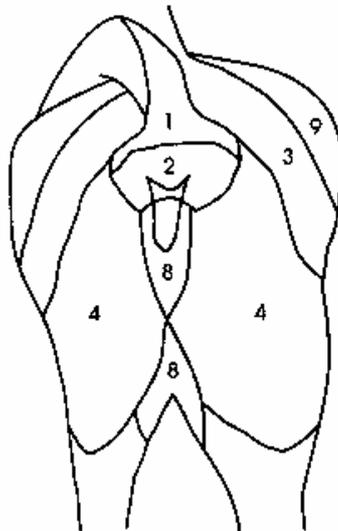


Figura 3 – Aspecto caudal do dermatômo perineal (1, 2 e 8), sacral (3 e 4) e lombar (9) conforme descrito por SKARDA & MUIR (1993) e SCHELLING & KLEIN (1985).

### 3.2.6. Análise estatística

A determinação do número de unidades experimentais foi conduzida a partir da consideração de uma diferença mínima de 20 Volts entre grupos e a menor diferença considerada significativa, a um valor de  $\alpha = 0,05$  e poder de 80% ( $n = 6$ ).

<sup>o</sup> IRMA Blood Analysis System, Diagnostics Medical Inc., Roseville, CA, USA.

<sup>p</sup> IRMA TRUPOINT Blood Analysis System, Edison, NJ, USA.

Os dados paramétricos foram sumarizados e plotados em gráficos de média e desvio padrão. As variáveis mensuradas foram avaliadas por efeito de tempo e tratamento (opióide hiperbárico versus GLICOSE a 10%) através de Análise de Variância (ANOVA). Para a determinação de diferença significativa entre as médias do mesmo grupo, utilizou-se o teste de *Bonferroni*, utilizando-se  $P < 0,05$ . Todas as análises foram realizadas a partir de um software estatístico<sup>9</sup>.

---

<sup>9</sup> Prism 4 Graph, GraphPad Software, San Diego, CA, USA.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Fase “*in vitro*”

A determinação da densidade do líquido cérebro-espinhal equino foi de 1006, sendo que soluções com gravidade específica superior a este valor foram consideradas hiperbáricas em relação do LCE. A determinação da gravidade específica de cada agente estudado foi de 1043 para glicose a 10%, 1042 para morfina + glicose 10%, 1038 para metadona + glicose 10% e 1034 para buprenorfina + glicose a 10%.

O modelo proposto neste estudo, preenchido com líquido cérebro-espinhal de cavalos, foi efetivo na avaliação do comportamento físico das substâncias estudadas conforme metodologia proposta, permitindo auxílio na escolha dos agentes a serem utilizados na fase “*in vivo*”.

O comportamento dos fármacos opióides hiperbáricos marcados com azul de metileno durante a administração por infusão contínua por bomba à seringa no modelo, mostrou que a morfina a 10%, a buprenorfina a 10% e a metadona a 10% exerceram efeito de descida no líquido cérebro-espinhal no ponto de injeção, fazendo contato direto com o segmento de silicone interno do modelo que mimetizou a medula, fazendo uma espécie de depósito no assoalho do modelo, quando houve o avanço cranial do agente opióide hiperbárico.

O registro do avanço em centímetros da glicose a 5% e 10%, dos agentes opióides isobáricos e dos opióides hiperbáricos a 5% e 10% no modelo, foi realizado até os 15 minutos após o término da injeção por infusão por bomba à injeção, tempo este em que houve progressão das substâncias, sendo um avanço máximo de 33cm para a glicose a 5%, 15cm para a glicose a 10%, 42cm para a morfina isobárica, 21cm para a morfina a 5%, 13cm para a morfina a 10%, 48cm para a buprenorfina isobárica, 30cm para a buprenorfina a 5%, 18cm para a buprenorfina a 10%, 30cm para a metadona isobárica, 23cm para a metadona a 5% e 17cm para a metadona a 10%. A tabela 1 mostra os resultados do avanço dos agentes testados no modelo “*in vitro*” ao término da administração subaracnóide e de minuto a minuto até 15 minutos após a administração.

#### 4.2. Fase “*in vivo*”

Os resultados não mostraram diferença significativa nas variáveis cardiovasculares e respiratórias em ambos os grupos de opióides hiperbáricos estudados. As frequências cardíaca e respiratória, pressões arteriais (sistólica, diastólica e média) mantiveram-se dentro de limites de referência para a espécie em questão, conforme mostram consecutivamente as Figuras numeradas de 4 a 8. Os dados paramétricos em relação a pressão arterial (sistólica, média e diastólica) estão listados na Tabela 2, e as frequências cardíaca e respiratória estão registradas na Tabela 3.

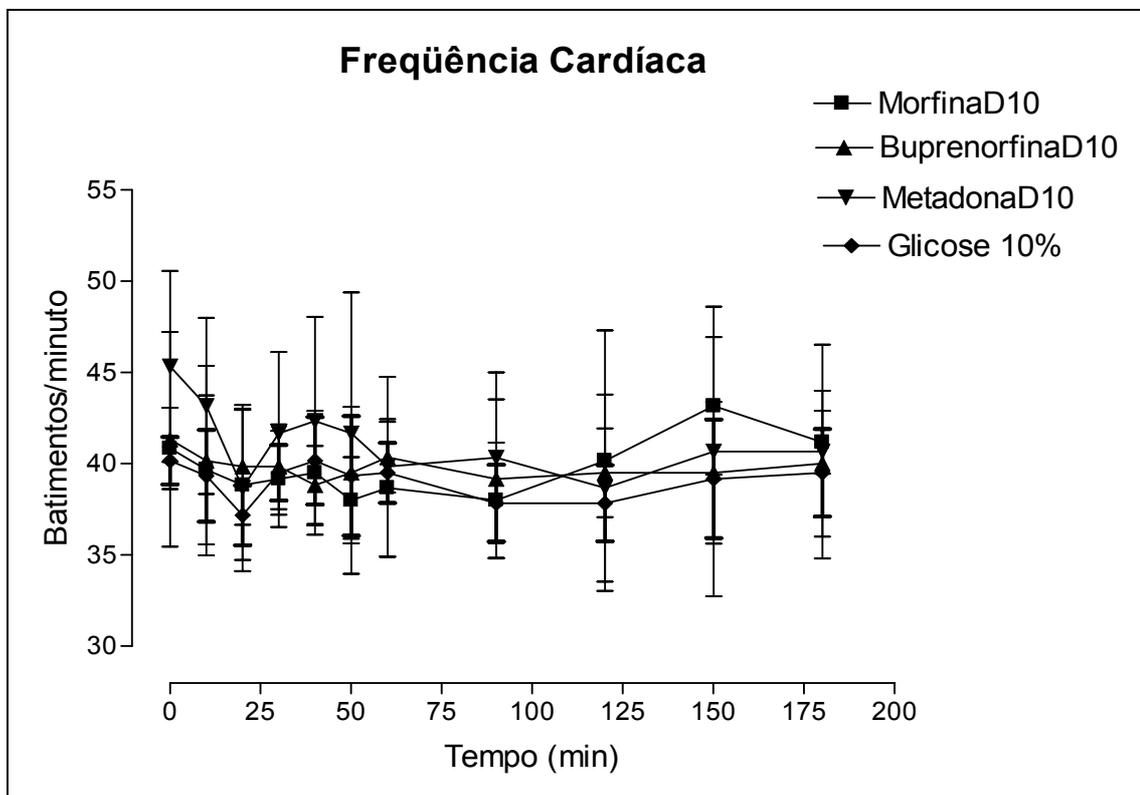


Figura 4 – Média e desvio padrão da frequência cardíaca de cavalos submetidos à administração subaracnóide de glicose a 10%, morfina hiperbárica, buprenorfina hiperbárica e metadona hiperbárica.

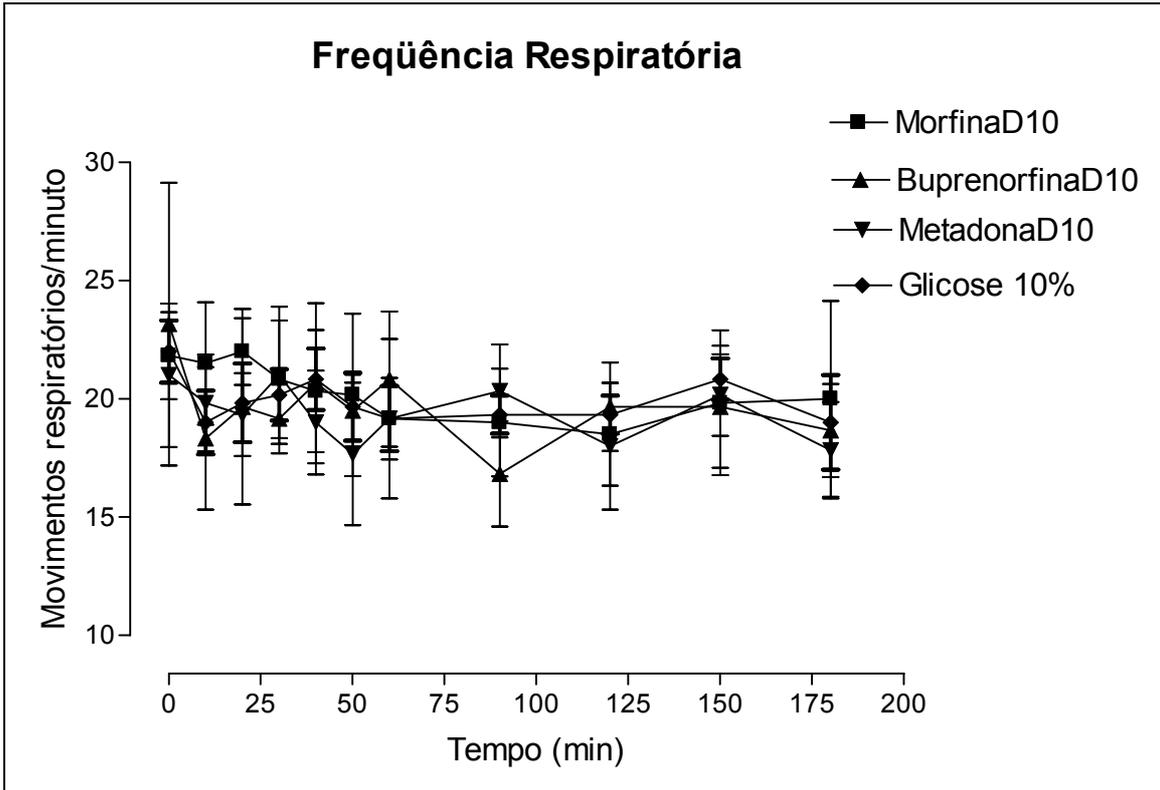


Figura 5 – Média e desvio padrão da freqüência respiratória de cavalos submetidos à administração subaracnóide de glicose a 10%, morfina hiperbárica, buprenorfina hiperbárica e metadona hiperbárica.

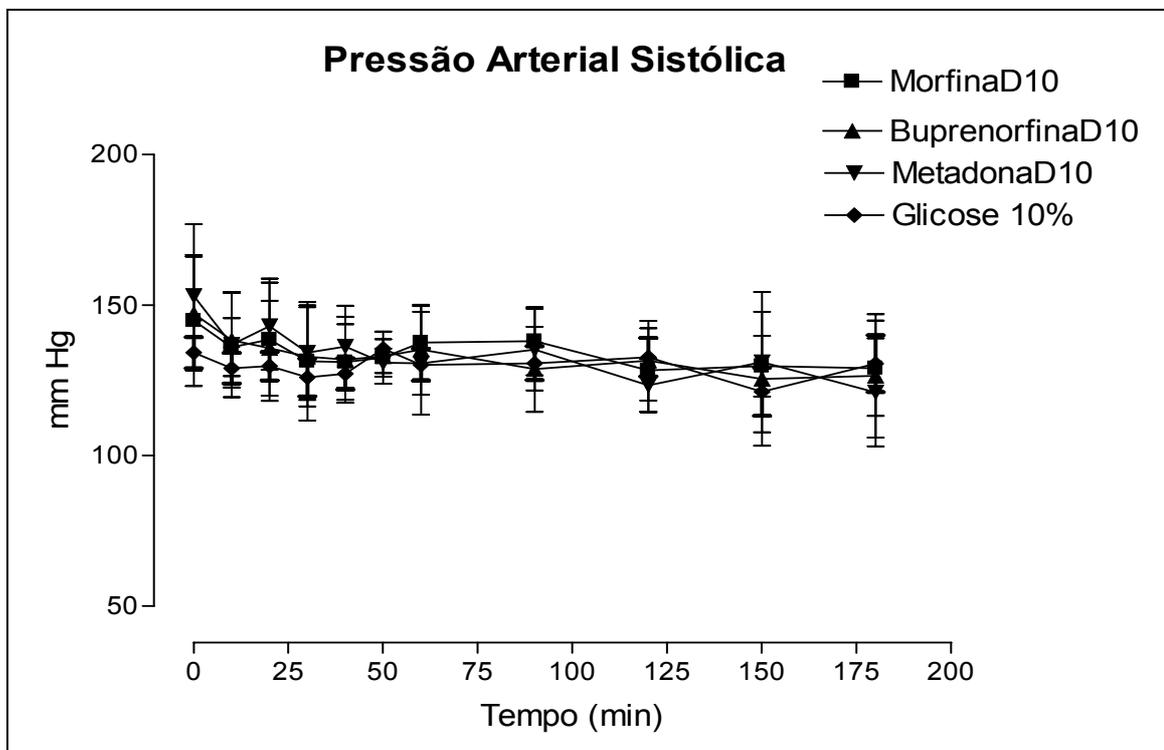


Figura 6 – Média e desvio padrão da pressão arterial sistólica de cavalos submetidos à administração subaracnóide de glicose a 10%, morfina hiperbárica, buprenorfina hiperbárica e metadona hiperbárica.

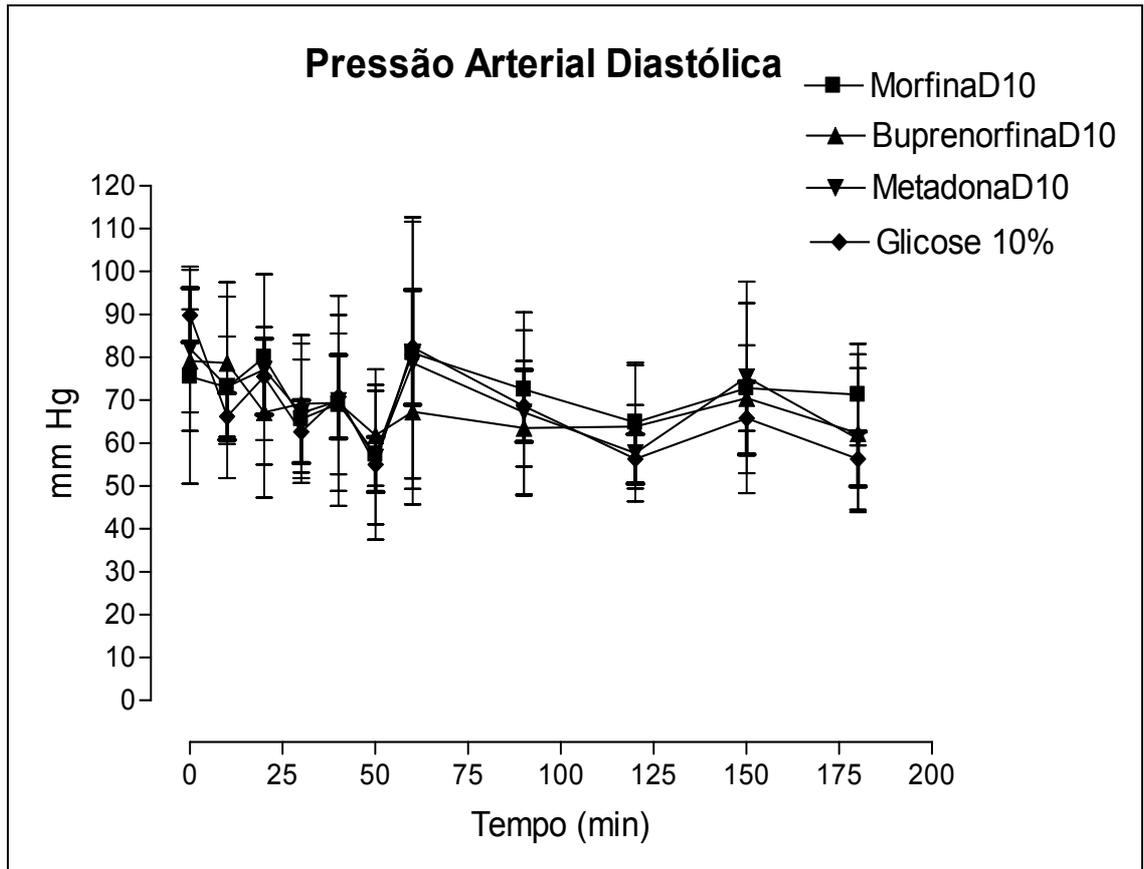


Figura 7 – Média e desvio padrão da pressão arterial diastólica de cavalos submetidos à administração subaracnóide de glicose a 10%, morfina hiperbárica, buprenorfina hiperbárica e metadona hiperbárica.

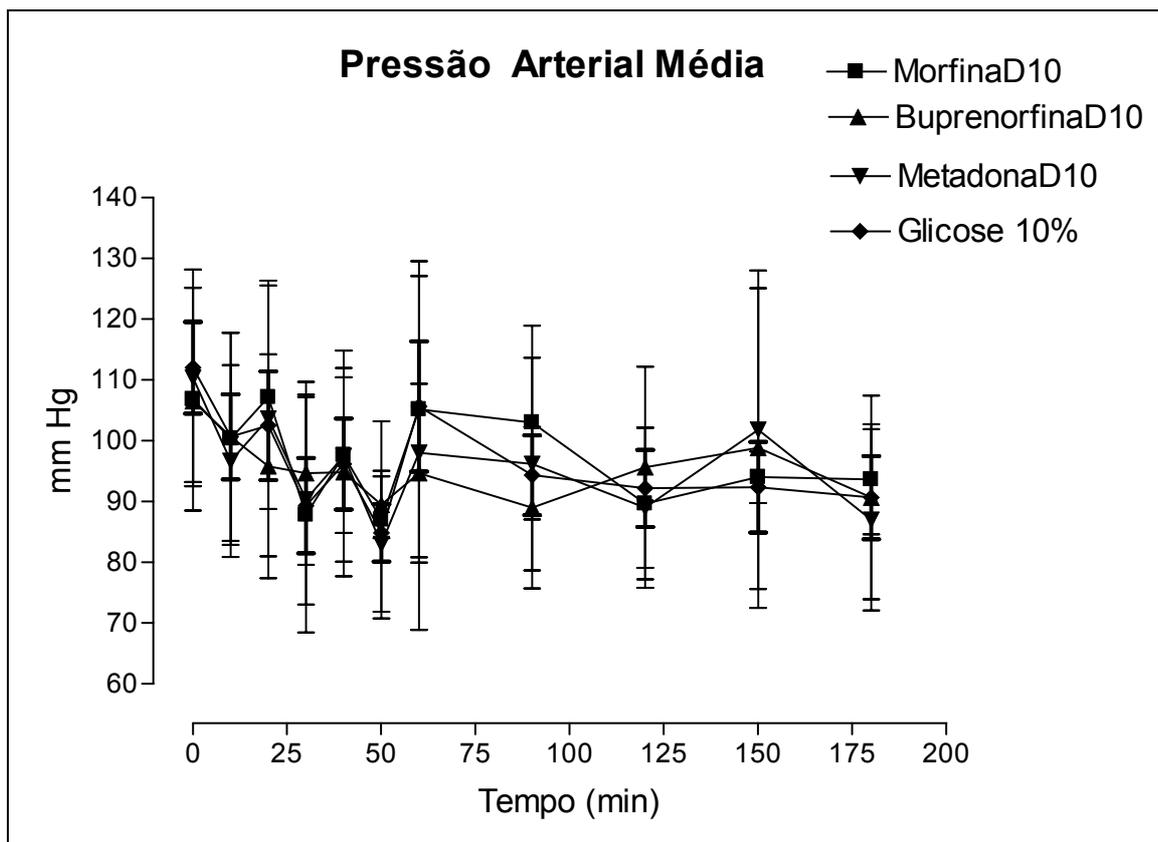


Figura 8 – Média e desvio padrão da pressão arterial média de cavalos submetidos à administração subaracnóide de glicose a 10%, morfina hiperbárica, buprenorfina hiperbárica e metadona hiperbárica.

No que tange aos efeitos sobre o SNC, ataxia, sedação ou excitação do sistema nervoso central não foram observadas durante a experimentação.

A avaliação da altura da cabeça em relação ao solo mostrou que a pequena variação entre os valores obtidos não foi estatisticamente importante. A Tabela 3, relaciona as mensurações da altura da cabeça em relação ao solo antes e após a administração subaracnóide das substâncias hiperbáricas testadas.

Desconforto transitório mostrado por movimentação voluntária da pele e olhar dirigido para a região da administração subaracnóide foi observado especificamente em um equino, desaparecendo voluntariamente ao término da injeção. Ao término do experimento, nenhum dos animais utilizados manifestou sinais de complicação relativa à cateterização durante o período do estudo e/ou administração subaracnóide do agente hiperbárico.

O limiar doloroso à estimulação elétrica nociceptiva foi aumentado significativamente pela buprenorfina, morfina e metadona em todos os momentos de avaliação. A analgesia foi considerada profunda após 10 minutos nos dermatômos

perineal, sacral, lombar e torácico, permanecendo por aproximadamente 120 minutos com a morfina e a metadona hiperbáricas.

Aos 10 minutos, o limiar doloroso para o estímulo nocivo elétrico no dermatomo perineal, aumentou de 10V para  $29 \pm 11V$ ;  $43 \pm 10V$ ; e  $35 \pm 10V$  para morfina, metadona e buprenorfina, respectivamente. Na região lombar (dermatomo lombar), o limiar aumentou de 10V para  $28 \pm 8V$ ;  $40 \pm 6V$ ; e  $25 \pm 5V$  para morfina, metadona e buprenorfina, respectivamente. Na região torácica (dermatomo torácico), o limiar aumentou de 10V para  $39 \pm 12V$ ;  $35 \pm 9$ ; e  $33 \pm 7V$  para morfina, metadona e buprenorfina, respectivamente.

Observou-se aumento do limiar ao estímulo elétrico nociceptivo dos 10 minutos a aproximadamente 180 minutos em todos os dermatomos para todos os opióides, sendo mais pronunciado aos 90 minutos para a metadona hiperbárica e aos 120 minutos para a morfina hiperbárica. Com buprenorfina, o limiar foi aumentado de 10 V para aproximadamente 30 V por aproximadamente 40 minutos.

O aumento máximo de limiar ocorreu no dermatomo perineal, aos 50 minutos ( $47 \pm 10V$ ); 10 minutos ( $43 \pm 10V$ ); e 40 minutos ( $31 \pm 7V$ ) com morfina, metadona e buprenorfina, respectivamente. A figura 9 demonstra as variações dos limiares de estímulo elétrico nos momentos estudados.

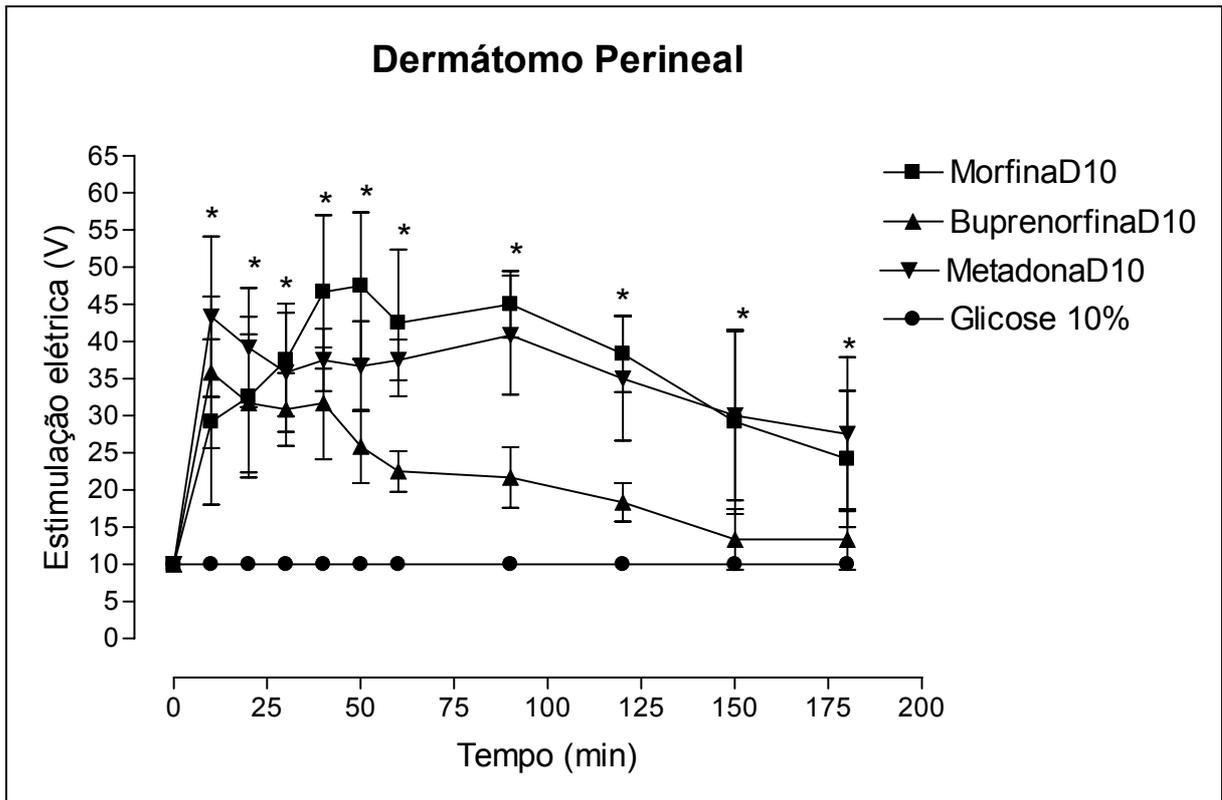


Figura 9 – Média e desvio padrão do limiar de dor à estimulação elétrica aplicado no dermatomo perineal após a administração subaracnóide de glicose a 10%, morfina hiperbárica, buprenorfina hiperbárica e metadona hiperbárica em cavalos. \* Dentro do momento, valores diferem significativamente ( $P < 0,05$ ) em relação ao grupo controle de glicose a 10%.

No dermatomo sacral, o aumento máximo no limiar elétrico foi observado aos 40 minutos ( $47 \pm 13V$ ), 90 minutos ( $47 \pm 4V$ ); e 30 minutos ( $31 \pm 5V$ ) com morfina, metadona e buprenorfina, respectivamente, como podem ser observados na figura 10.

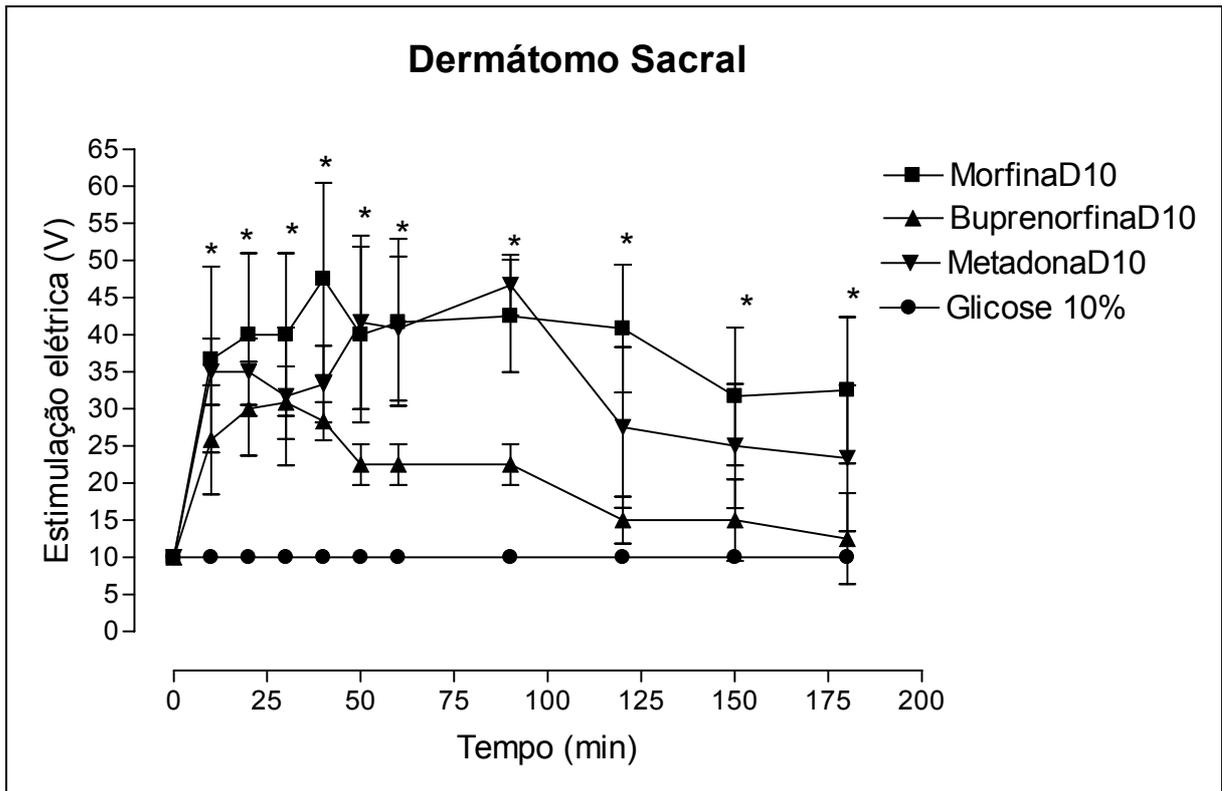


Figura 10 – Média e desvio padrão do limiar de dor à estimulação elétrica aplicado no dermatômo sacral após a administração subaracnóide de glicose a 10%, morfina hiperbárica, buprenorfina hiperbárica e metadona hiperbárica em cavalos. \* Dentro do momento, valores diferem significativamente ( $P < 0,05$ ) em relação ao grupo controle de glicose a 10%.

No dermatômo lombar, o pico do limiar ocorreu aos 50 minutos ( $40 \pm 11V$ ), 10 minutos ( $40 \pm 6V$ ); e aos 20 minutos ( $32 \pm 7V$ ); com morfina, metadona e buprenorfina, respectivamente (Figura 11).

No dermatômo torácico, o pico obtido foi aos 40 minutos ( $52 \pm 5V$ ); 90 minutos ( $43 \pm 14V$ ); e aos 10 minutos ( $33 \pm 8V$ ); com morfina, metadona e buprenorfina, respectivamente, como representado na figura 12.

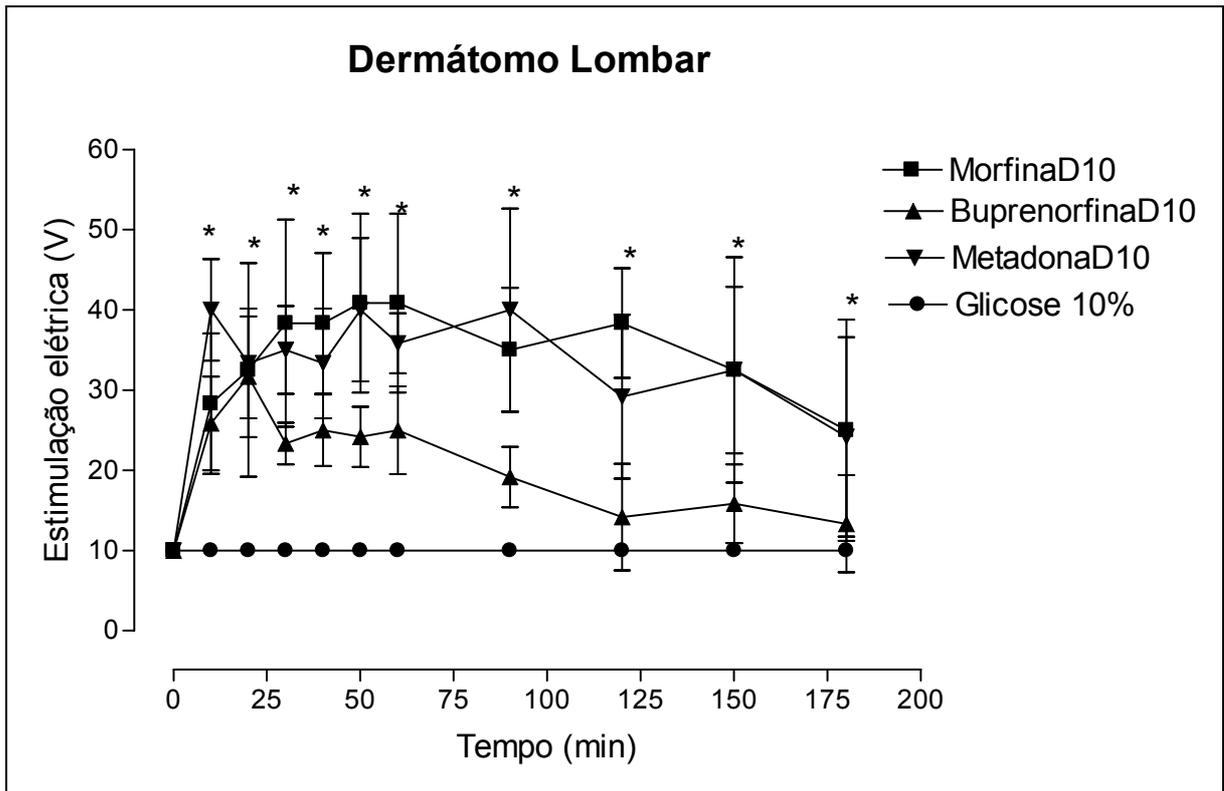


Figura 11 – Média e desvio padrão do limiar de dor à estimulação elétrica aplicado no dermatomo lombar após a administração subaracnóide de glicose a 10%, morfina hiperbárica, buprenorfina hiperbárica e metadona hiperbárica em cavalos. \* Dentro do momento, valores diferem significativamente ( $P < 0,05$ ) em relação ao grupo controle de glicose a 10%.

Mais constantemente, os cavalos olharam para o lado onde o estímulo elétrico foi aplicado quando o limiar elétrico foi menor do que 40V realizaram movimento da cauda, membros, tronco e cabeça ou pescoço, quando o estímulo foi menor do que 30V; e coicearam quando o estímulo foi menor do que 20V. O grupo controle tratado com glicose a 10% subaracnóide, não mostrou nenhuma alteração no limiar de estimulação elétrica, sendo que todos os cavalos responderam ao estímulo de 10V com coice e movimentos bruscos.

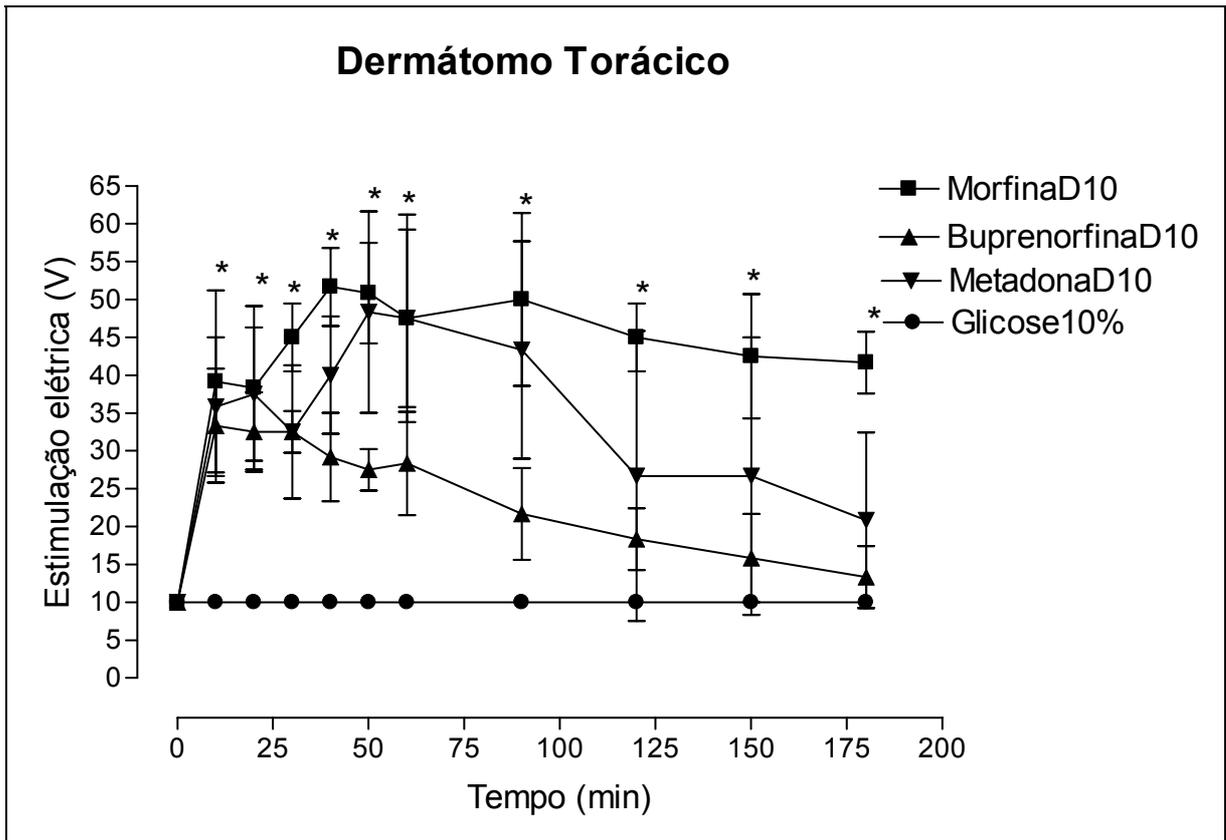


Figura 12 – Média e desvio padrão do limiar de dor à estimulação elétrica aplicado no dermatômo torácico após a administração subaracnóide de glicose a 10%, morfina hiperbárica, buprenorfina hiperbárica e metadona hiperbárica em cavalos. \* Dentro do momento, valores diferem significativamente ( $P < 0,05$ ) em relação ao grupo controle de glicose a 10%.

As tabelas numeradas de 4 a 7, listam os valores da voltagem de estimulação elétrica nos dermatômos perineal, sacral, lombar e torácico, consecutivamente.

Em relação aos parâmetros hemogasométricos, realizados no momento basal, aos 90 minutos e aos 180 minutos após a administração subaracnóide da glicose a 10%, da morfina hiperbárica, buprenorfina hiperbárica e metadona hiperbárica, não houve alterações significativas, mantendo-se os valores dentro dos parâmetros considerados fisiológicos para a espécie. As figuras de números 13 a 20, representam consecutivamente as variáveis pH,  $\text{PaCO}_2$ ,  $\text{PaO}_2$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{SatO}_2\%$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{iCa}$ , e a Tabela 8, sumariza as variáveis hemogasométricas de  $\text{PaO}_2$ ,  $\text{PaCO}_2$  e pH.

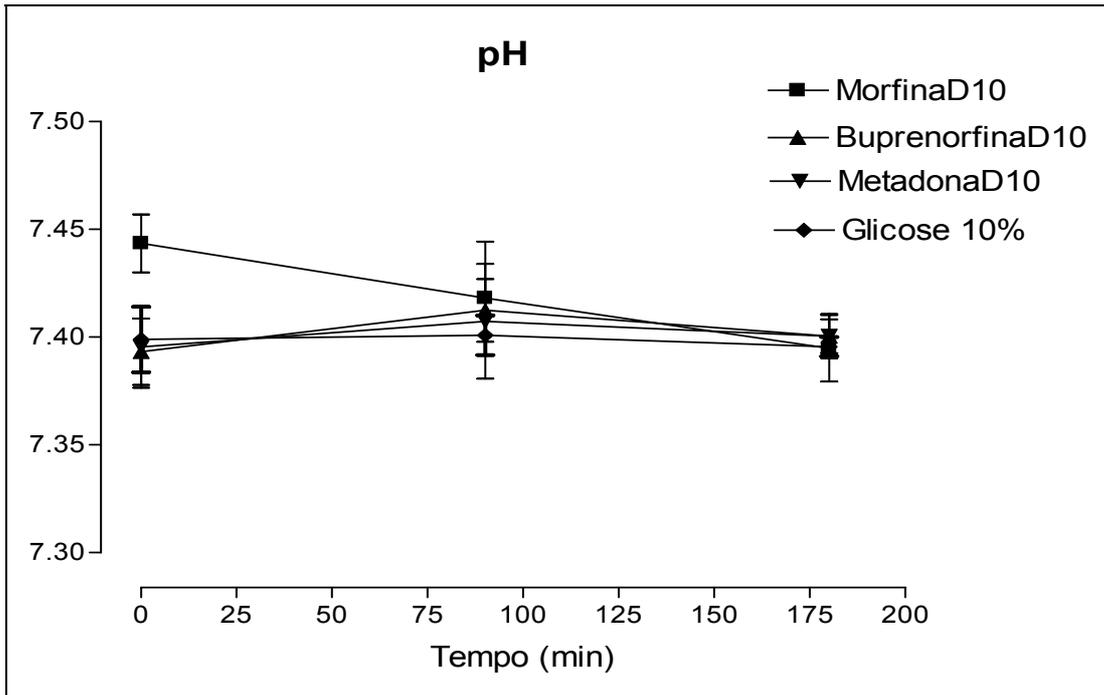


Figura 13 – Média e desvio padrão do pH de cavalos submetidos à administração subaracnóide de glicose a 10%, morfina hiperbárica, buprenorfina hiperbárica e metadona hiperbárica.

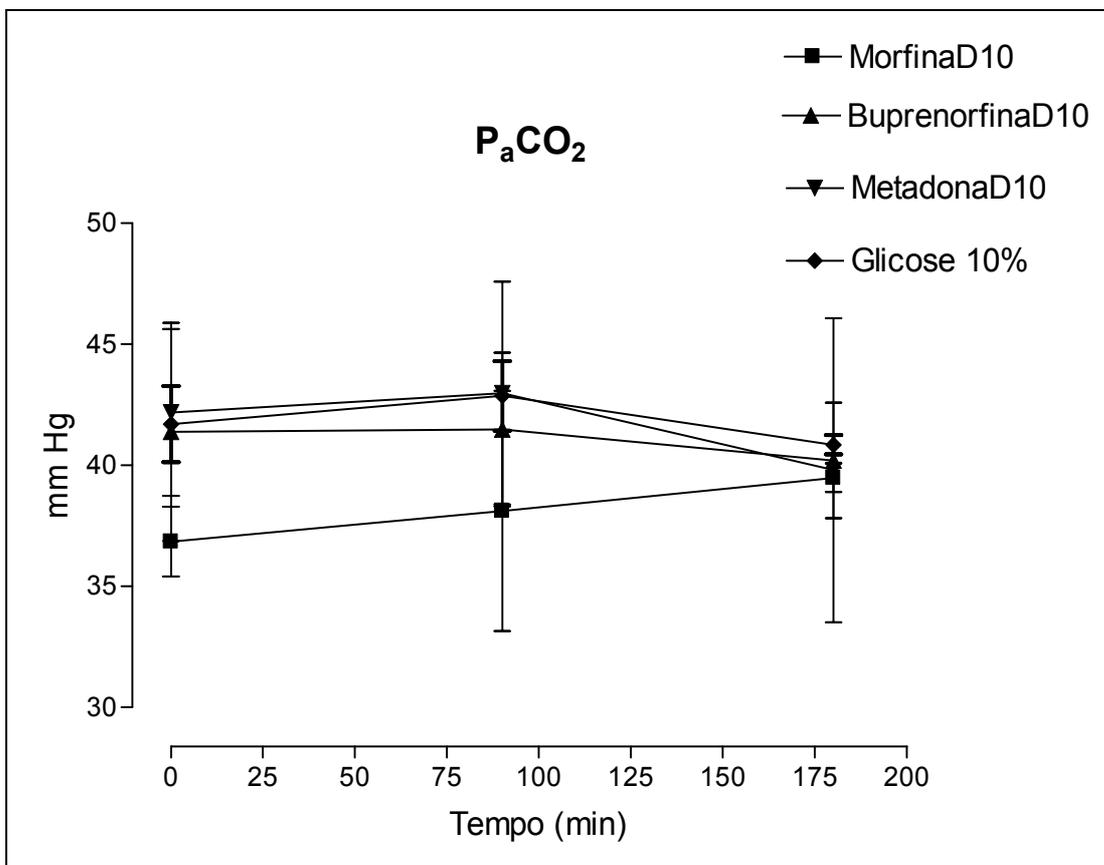


Figura 14 – Média e desvio padrão da PaCO<sub>2</sub> de cavalos submetidos à administração subaracnóide de glicose a 10%, morfina hiperbárica, buprenorfina hiperbárica e metadona hiperbárica.

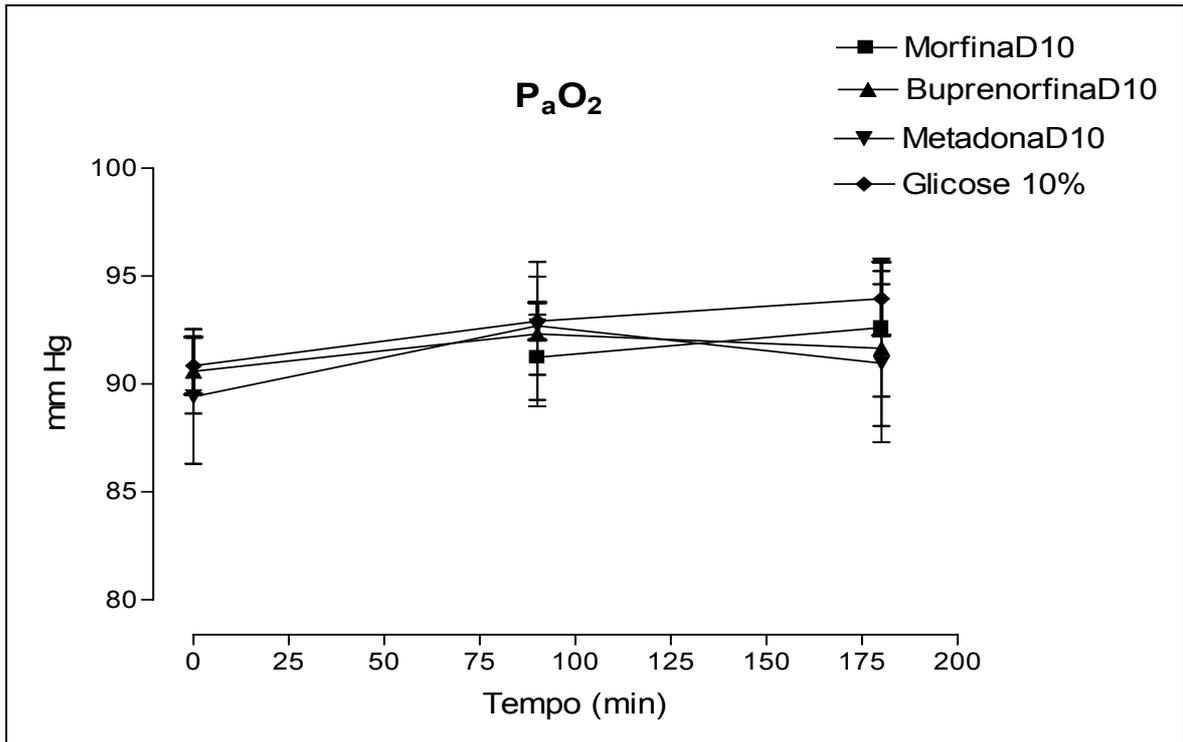


Figura 15 – Média e desvio padrão da  $P_{aO_2}$  de cavalos submetidos à administração subaracnóide de glicose a 10%, morfina hiperbárica, buprenorfina hiperbárica e metadona hiperbárica.

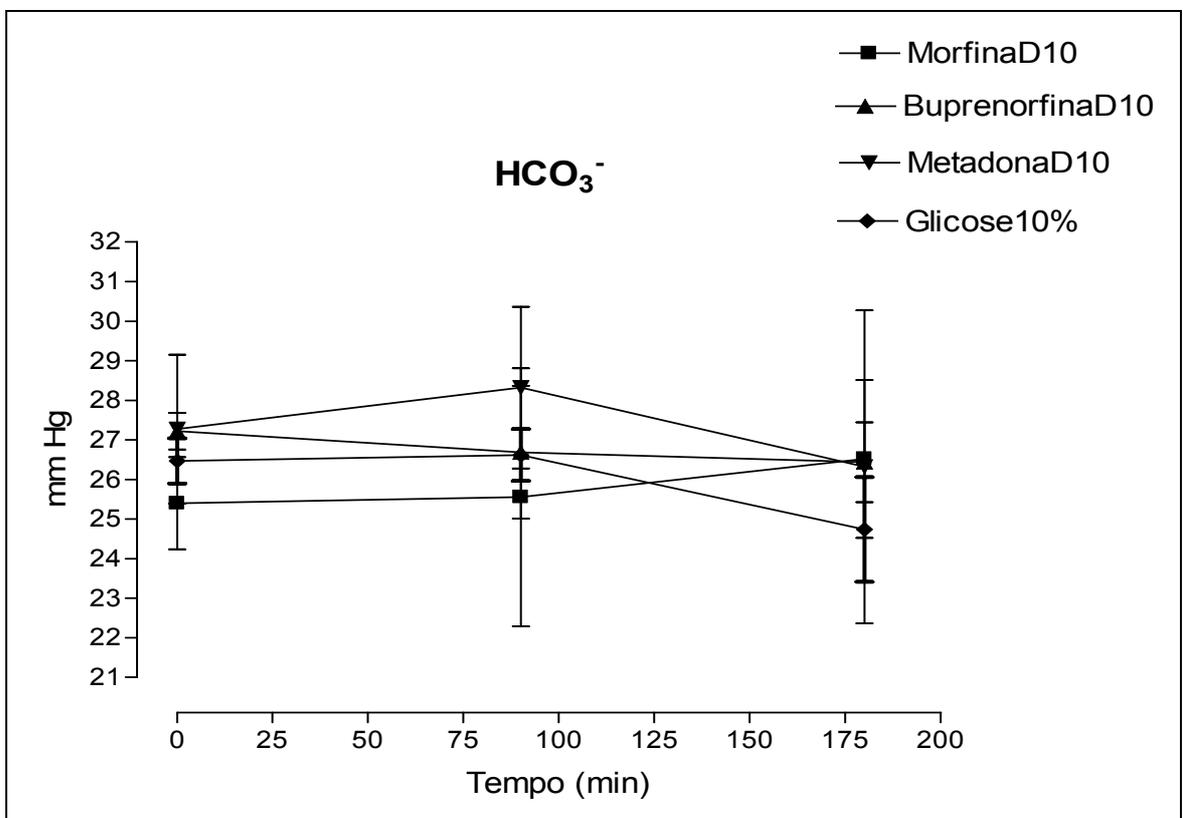


Figura 16 – Média e desvio padrão da concentração plasmática de  $HCO_3^-$  de cavalos submetidos à administração subaracnóide de glicose a 10%, morfina hiperbárica, buprenorfina hiperbárica e metadona hiperbárica.

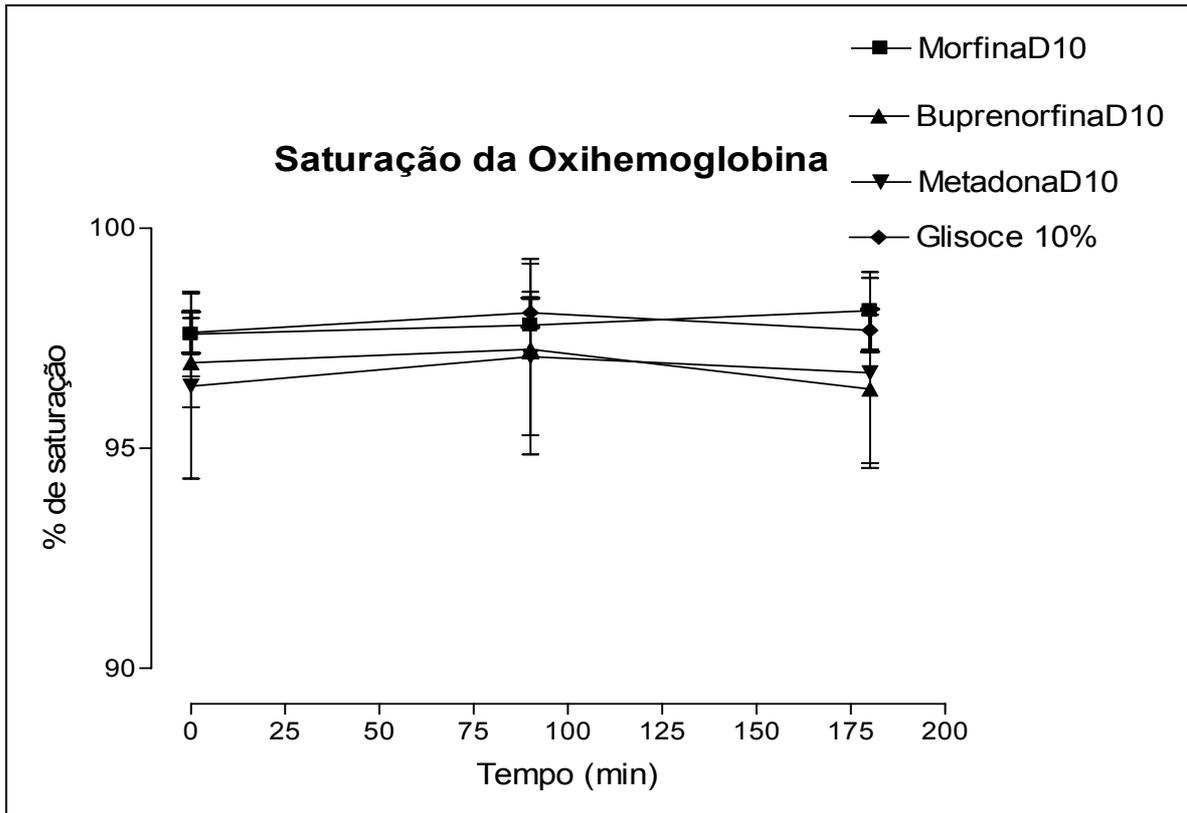


Figura 17 – Média e desvio padrão da  $\text{SatO}_2\%$  de cavalos submetidos à administração subaracnóide de glicose a 10%, morfina hiperbárica, buprenorfina hiperbárica e metadona hiperbárica.

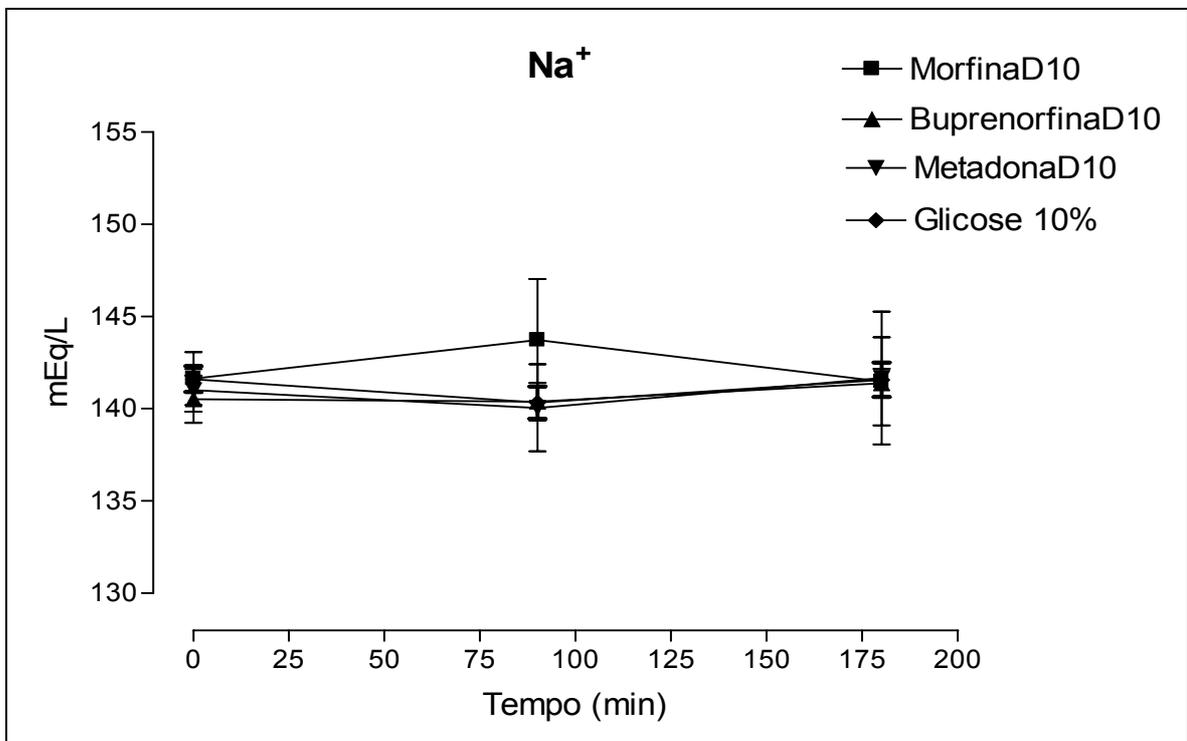


Figura 18 – Média e desvio padrão da concentração plasmática de  $\text{Na}^+$  de cavalos submetidos à administração subaracnóide de glicose a 10%, morfina hiperbárica, buprenorfina hiperbárica e metadona hiperbárica.

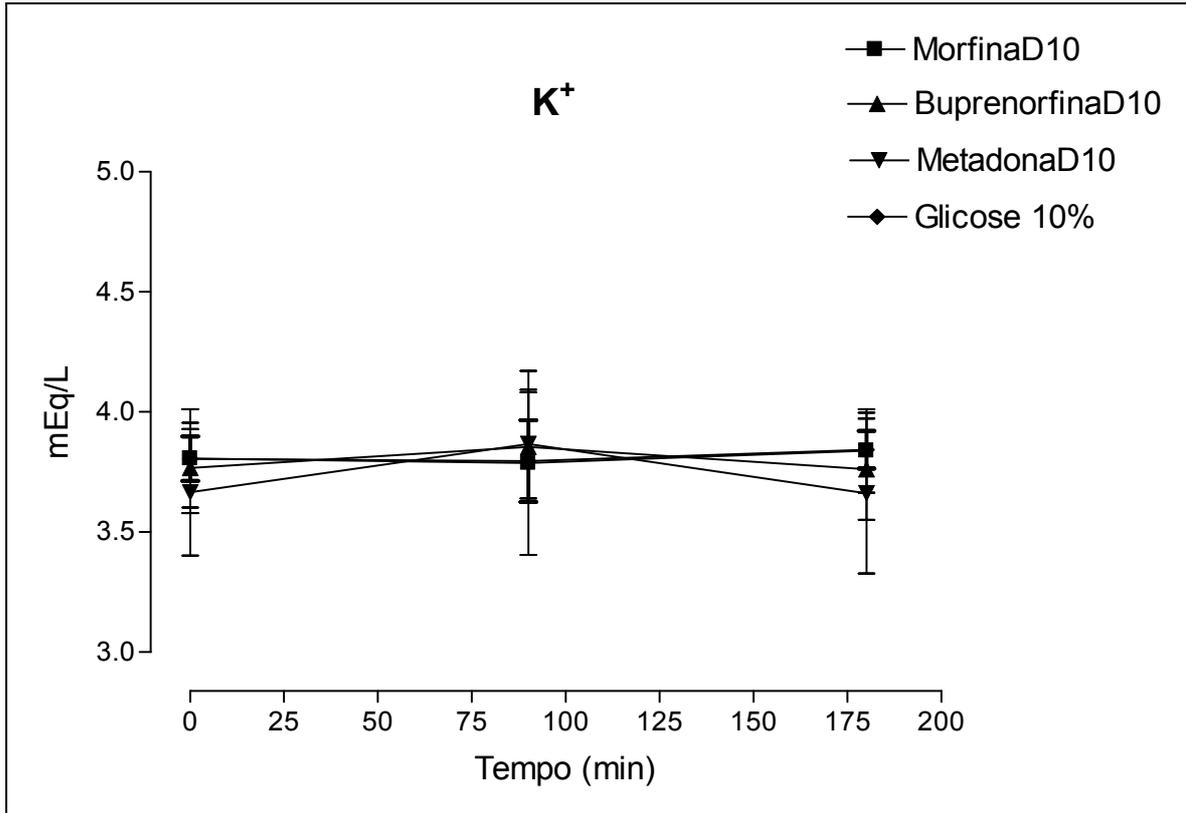


Figura 19– Média e desvio padrão da concentração plasmática de K<sup>+</sup> de cavalos submetidos à administração subaracnóide de glicose a 10%, morfina hiperbárica, buprenorfina hiperbárica e metadona hiperbárica.

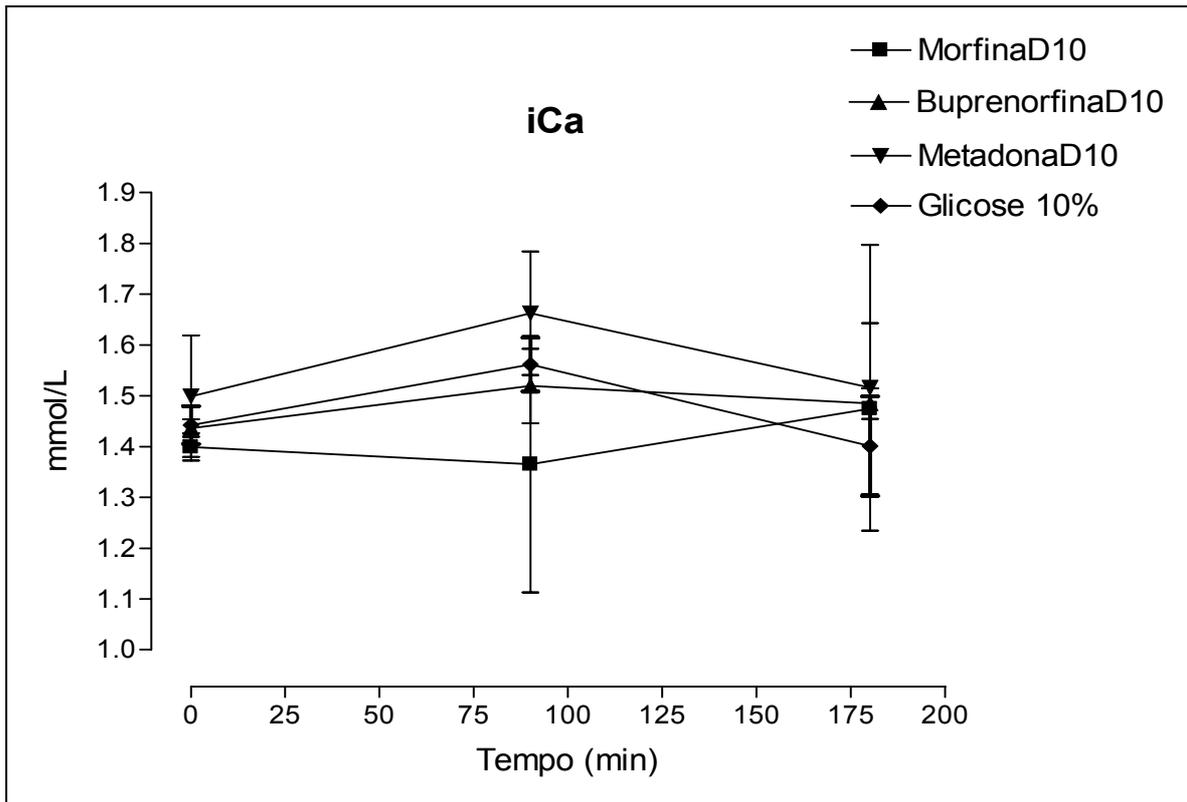


Figura 20 – Média e desvio padrão da concentração plasmática de iCa de cavalos submetidos à administração subaracnóide de glicose a 10%, morfina hiperbárica, buprenorfina hiperbárica e metadona hiperbárica.

Tabela 1 – Registro do avanço (em centímetros) dos fármacos testados no modelo experimental do espaço subaracnóide de cavalos.

Avanço (em centímetros) dos Fármacos testados no modelo											
Tempo (minutos)	Glicose 5%	Glicose 10%	Morfina Iso	Morfina 5%	Morfina 10%	Buprenorfina Iso	Buprenorfina 5%	Buprenorfina 10%	Metadona Iso	Metadona 5%	Metadona 10%
0	20	13	27	15	11	42	25	15	24	17	15
1	22	13	30	16	12	44	25	16	29	18	15
2	26	14	35	16	12	48	27	17	30	20	16
3	28	14	38	17	13	48	28	17	30	22	17
4	31	15	40	17	13	48	28	17	30	23	17
5	31	15	42	19	13	48	29	17	30	23	17
6	33	15	42	20	13	48	29	18	30	23	17
7	33	15	42	20	13	48	30	18	30	23	17
8	33	15	42	20	13	48	30	18	30	23	17
9	33	15	42	21	13	48	30	18	30	23	17
10	33	15	42	21	13	48	30	18	30	23	17
11	33	15	42	21	13	48	30	18	30	23	17
12	33	15	42	21	13	48	30	18	30	23	17
13	33	15	42	21	13	48	30	18	30	23	17
14	33	15	42	21	13	48	30	18	30	23	17
15	33	15	42	21	13	48	30	18	30	23	17

Tempo (minutos): “0”: ao término da administração subaracnóide; “1 a 15”: minuto a minuto após a administração subaracnóide.

Tabela 2 – Médias e desvios padrões da pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD) e pressão arterial média (PAM) antes (tempo 0) e após (10 a 180 minutos) da administração subaracnóide de morfina hiperbárica (Morfina10), buprenorfina hiperbárica (Buprenorfina10), metadona hiperbárica (Metadona10) e glicose a 10% em cavalos (n=6).

Tempo (minutos)	Morfina10			Buprenorfina10			Metadona10			Glicose 10%		
	PAS	PAD	PAM	PAS	PAD	PAM	PAS	PAD	PAM	PAS	PAD	PAM
0	145±22	75±25	107±18	147±19	79±12	106±13	153±24	82±19	110±18	134±12	90±15	112±18
10	136±10	73±21	100±17	138±16	79±19	101±17	137±17	73±12	97±16	129±12	66±13	101±17
20	138±20	80±19	107±18	136±16	67±20	96±18	143±14	77±22	104±23	130±11	75±22	102±22
30	131±20	66±14	88±19	133±16	69±16	95±15	134±15	67±16	90±17	126±15	63±18	89±19
40	131±12	69±16	98±13	132±14	69±20	95±17	136±14	70±24	97±17	127±13	71±24	96±18
50	132±9	57±20	87±16	133±6	62±12	89±5	131±5	57±15	83±11	135±4	55±16	85±11
60	137±12	81±32	105±24	135±15	67±16	95±15	131±17	79±33	98±29	130±13	82±33	106±26
90	138±11	72±18	103±16	129±14	63±16	89±13	135±13	67±19	96±17	131±14	69±20	94±16
120	128±14	65±14	90±12	131±13	64±14	96±16	123±9	58±11	89±13	133±16	56±14	92±16
150	130±10	73±10	94±4	125±22	70±22	99±26	131±23	75±22	102±26	121±19	66±21	92±18
180	129±16	71±2	94±9	126±20	62±18	91±17	121±18	61±16	87±15	130±23	56±16	91±17

Tabela 3 – Médias e desvios padrões da frequência cardíaca (batimentos/minuto), frequência respiratória (movimentos/minuto) e distância da cabeça ao solo (cm) antes (tempo 0) e após (10 a 180 minutos) da administração subaracnóide de morfina hiperbárica (Morfina10), buprenorfina hiperbárica (Buprenorfina10), metadona hiperbárica (Metadona10) e glicose a 10% em cavalos (n=6).

Tempo (minutos)	Morfina10			Buprenorfina10			Metadona10			Glicose 10%		
	FC	FR	Cabeça Solo	FC	FR	Cabeça Solo	FC	FR	Cabeça Solo	FC	FR	Cabeça Solo
0	41±2	22±2	116±5	41±6	23±6	120±5	45±5	21±3	112±4	40±3	22±3	112±2
10	40±4	21±2	112±7	40±5	18±3	118±7	43±5	20±2	117±3	39±6	19±3	112±1
20	39±4	22±1	116±4	40±3	20±4	120±5	39±4	19±2	118±2	37±4	20±4	117±3
30	39±3	±21±2	112±4	40±2	19±1	119±8	42±4	21±3	119±5	39±4	20±3	116±7
40	39±3	20±2	112±4	39±2	21±3	120±6	42±6	19±2	117±3	40±6	21±3	114±5
50	38±2	20±3	116±5	39±4	19±1	120±6	42±8	18±3	117±4	39±8	20±3	115±5
60	39±4	19±3	112±4	40±2	21±3	117±8	40±5	19±2	118±4	39±4	19±3	115±5
90	38±3	19±2	114±5	39±4	17±2	118±7	40±5	20±2	117±5	38±5	19±2	113±5
120	40±7	18±2	111±2	39±2	20±2	117±7	39±5	18±3	116±5	38±5	19±2	113±4
150	43±4	20±3	112±2	39±4	20±2	115±8	41±8	20±2	112±4	39±8	21±2	112±4
180	41±2	20±4	113±5	40±4	19±2	117±8	41±6	18±2	116±4	39±6	19±5	115±5

Tabela 4 – Médias e desvios padrões da estimulação elétrica (volts) no Dermátomo Perineal, antes (tempo 0), e após (10 a 180 minutos) da administração subaracnóide de morfina hiperbárica (Morfina10), buprenorfina hiperbárica (Buprenorfina10), metadona hiperbárica (Metadona10) e glicose a 10% em cavalos (n=6).

Tempo (minutos)	Morfina10	Buprenorfina10	Metadona10	Glicose 10%
0	10,00±0,00	10,00±0,00	10,00±0,00	10,00±0,00
10	29,17±11,14	35,83±10,21	43,33±10,80	10,00±0,00
20	32,50±10,84	31,67±9,31	39,17±8,01	10,00±0,00
30	37,50±7,58	30,83±4,92	35,83±8,01	10,00±0,00
40	46,67±10,33	31,67±7,53	37,50±4,18	10,00±0,00
50	47,50±9,87	25,83±4,92	36,67±6,05	10,00±0,00
60	42,50±9,87	22,50±2,74	37,50±2,74	10,00±0,00
90	45,00±4,47	21,67±4,08	40,83±8,01	10,00±0,00
120	38,33±5,16	18,33±2,58	35,00±8,37	10,00±0,00
150	29,17±12,42	13,33±4,08	30,00±11,40	10,00±0,00
180	24,17±9,17	13,33±4,08	27,50±10,37	10,00±0,00

Tabela 5 – Médias e desvios padrões da estimulação elétrica (volts) no Dermátomo Sacral, antes (tempo 0), e após (10 a 180 minutos) da administração subaracnóide de morfina hiperbárica (Morfina10), buprenorfina hiperbárica (Buprenorfina10), metadona hiperbárica (Metadona10) e glicose a 10% em cavalos (n=6).

Tempo (minutos)	Morfina10	Buprenorfina10	Metadona10	Glicose 10%
0	10,00±0,00	10,00±0,00	10,00±0,00	10,00±0,00
10	36,67±12,51	25,83±7,36	35,00±4,47	10,00±0,00
20	40,00±10,95	30,00±6,32	35,00±4,47	10,00±0,00
30	40,00±10,95	30,83±4,92	31,67±9,30	10,00±0,00
40	47,50±12,94	28,33±2,58	33,33±5,16	10,00±0,00
50	40,00±11,83	22,50±2,74	41,67±11,69	10,00±0,00
60	41,67±11,25	22,50±2,74	40,83±9,70	10,00±0,00
90	42,50±7,58	22,50±2,74	46,67±4,08	10,00±0,00
120	40,83±8,61	15,00±3,16	27,50±10,84	10,00±0,00
150	31,67±9,31	15,00±5,48	25,00±8,37	10,00±0,00
180	32,50±9,87	12,50±6,12	23,33±9,83	10,00±0,00

Tabela 6 – Médias e desvios padrões da estimulação elétrica (volts) no Dermátomo Lombar, antes (tempo 0), e após (10 a 180 minutos) da administração subaracnóide de morfina hiperbárica (Morfina10), buprenorfina hiperbárica (Buprenorfina10), metadona hiperbárica (Metadona10) e glicose a 10% em cavalos (n=6).

Tempo (minutos)	Morfina10	Buprenorfina10	Metadona10	Glicose 10%
0	10,00±0,00	10,00±0,00	10,00±0,00	10,00±0,00
10	28,33±8,76	25,83±5,85	40,00±6,32	10,00±0,00
20	32,50±13,32	31,67±7,53	33,33±6,83	10,00±0,00
30	38,33±12,91	23,33±2,58	35,00±5,48	10,00±0,00
40	38,33±8,76	25,00±4,47	33,33±6,83	10,00±0,00
50	40,83±11,14	24,17±3,76	40,00±8,94	10,00±0,00
60	40,83±11,14	25,00±5,48	35,83±3,76	10,00±0,00
90	35,00±7,75	19,17±3,76	40,00±12,65	10,00±0,00
120	38,33±6,83	14,17±6,65	29,17±10,21	10,00±0,00
150	32,50±14,05	15,83±4,92	32,50±10,37	10,00±0,00
180	25,00±13,78	13,33±6,05	24,17±12,42	10,00±0,00

Tabela 7 – Médias e desvios padrões da estimulação elétrica (volts) no Dermátomo Torácico, antes (tempo 0), e após (10 a 180 minutos) da administração subaracnóide de morfina hiperbárica (Morfina10), buprenorfina hiperbárica (Buprenorfina10), metadona hiperbárica (Metadona10) e glicose a 10% em cavalos (n=6).

Tempo (minutos)	Morfina10	Buprenorfina10	Metadona10	Glicose 10%
0	10,00±0,00	10,00±0,00	10,00±0,00	10,00±0,00
10	39,17±12,01	33,33±7,53	35,83±9,17	10,00±0,00
20	38,33±10,80	32,50±5,24	37,50±8,80	10,00±0,00
30	45,00±4,47	32,50±2,74	32,50±8,80	10,00±0,00
40	51,67±5,16	29,17±5,84	40,00±7,75	10,00±0,00
50	50,83±6,65	27,50±2,74	48,33±13,29	10,00±0,00
60	47,50±13,69	28,33±6,83	47,50±11,73	10,00±0,00
90	50,00±11,40	21,67±6,05	43,33±14,38	10,00±0,00
120	45,00±4,47	18,33±4,08	26,67±19,15	10,00±0,00
150	42,50±8,22	15,83±5,84	26,67±18,35	10,00±0,00
180	41,67±4,08	13,33±4,08	20,83±11,58	10,00±0,00

Tabela 8 – Médias e desvios padrões do pH arterial( pH), pressão arterial de O<sub>2</sub> (PaO<sub>2</sub>) e pressão arterial de CO<sub>2</sub> (PaCO<sub>2</sub>), antes (tempo 0), aos 90 minutos a aos 180 minutos após a administração subaracnóide de morfina hiperbárica (Morfina10), buprenorfina hiperbárica (Buprenorfina10), metadona hiperbárica (Metadona10) e glicose a 10% em cavalos (n=6).

Tratamentos	Tempo (minutos)	0	90	180
Morfina10	pH	7,44±0,01	7,40±0,02	7,39±0,01
	PaCO <sub>2</sub>	37±1	38±5	39±0,5
	PaO <sub>2</sub>	77±33	91±2	93±3
Buprenorfina10	pH	7,39±0,01	7,41±0,01	7,40±0,01
	PaCO <sub>2</sub>	41±4	41±3	40±2
	PaO <sub>2</sub>	90±2	92±3	91±3
Metadona10	pH	7,39±0,01	7,40±0,02	7,40±0,01
	PaCO <sub>2</sub>	41±3	43±5	40±6
	PaO <sub>2</sub>	90±3	93±2	91±4
Glicose 10%	pH	7,39±0,03	7,40±0,02	7,39±0,01
	PaCO <sub>2</sub>	42±4	43±3	41±0,9
	PaO <sub>2</sub>	91±3	93±2	95±4

## 5. DISCUSSÃO

### 5.1. Fase “*in vitro*”

O modelo proposto e adotado neste estudo contribuiu para a escolha dos agentes utilizados nas unidades experimentais, uma vez que a visualização do comportamento físico das substâncias testadas norteou a escolha dos opióides na fase “*in vivo*” através de extrapolação do mesmo efeito no líquido cérebro-espinhal dos cavalos. ROBINSON et al. (1994), num estudo em que utilizaram um modelo “*in vitro*” para avaliação da distribuição de agentes anestésicos espinhais, comentam que modelos experimentais podem ser utilizados para investigar fatores de distribuição do agente no interior do espaço subaracnóide. Segundo eles, uma vez que a distribuição da substância injetada no espaço subaracnóide é um fator determinante para o sucesso da técnica, podendo-se estimar o comportamento físico de distribuição previamente ao uso clínico, minimiza-se o risco de efeitos adversos ou indesejáveis, aumentando o sucesso da técnica proposta.

Em toda revisão bibliográfica realizada, não se encontrou relato de modelos envolvendo anestesia/analgesia espinhal em medicina veterinária, e os relatos de modelos para avaliação de técnicas de anestesia ou instrumentação de acesso espinhal, concentravam-se em modelos mimetizando o espaço subaracnóide humano, utilizando fluídos preparados laboratorialmente como substitutos do líquido cérebro-espinhal. Neste estudo, utilizou-se líquido cérebro-espinhal de cavalos para preenchimento do modelo, o que anula o possível efeito de interferência de soluções fluídas que se assemelham ao líquor.

ANGLE et al. (2004), em um estudo em que utilizaram um modelo para avaliação de possíveis danos anatômicos a partir da cateterização subaracnóide, comentam da importância do controle de fatores externos que possam influenciar nos resultados, como temperatura ambiente e temperatura da solução que preenche o modelo. No presente estudo, mantivemos todas as seqüências de infusão no modelo em temperatura constante, tanto do líquido cérebro-espinhal quanto da temperatura ambiente, conforme previsto na metodologia, o que permite dizer que tais fatores não interferiram na forma e na distância de distribuição das substâncias testadas.

## 5.2. Fase “*in vivo*”

A administração subaracnóide de morfina, buprenorfina e metadona hiperbáricas foi efetiva na produção de analgesia de curta duração da região perineal à torácica sem comprometimento motor ou excitação do SNC, mostrando variação significativa em todos os momentos de avaliação da estimulação elétrica nos dermatômos investigados. Aos 10 minutos, o limiar para a percepção do estímulo elétrico aumentou de 10V para  $29 \pm 11V$  para a morfina,  $43V \pm 10V$  para metadona e  $35V \pm 10V$  para buprenorfina. O aumento do limiar para o estímulo nocivo apresentou diferença significativa para os três opióides aos 10 minutos da injeção subaracnóide, porém não para a solução de glicose a 10%. A curta duração do efeito analgésico obtido neste estudo pode limitar sua utilização em injeção única, porém quando da implantação de um cateter subaracn, analgesia profunda e prolongada pode ser produzida com múltiplas injeções.

SKARDA & MUIR (1992) e SKARDA & MUIR (2003), descreveram o uso de agentes anestésicos locais pela via subaracnóide em cavalos. Os mesmos autores relatam diversas complicações e efeitos adversos com a utilização destas técnicas, incluindo significativo aumento da frequência cardíaca e temperatura subcutânea, decréscimo da frequência respiratória e da temperatura retal, e completa perda de controle motor dos membros pélvicos. Efeitos depressores respiratórios como apnéia, síndrome do estresse respiratório do adulto, hipoxemia e hipercarbica, foram citados por GOETZ et al. (1994) na espécie humana após a administração epidural de opióides agonistas. Em eqüinos, tais efeitos não são consistentes após administração epidural, não havendo explicações comparativas entre a espécie humana e a eqüina. Os parâmetros respiratórios investigados na presente pesquisa mantiveram-se dentro de limites fisiológicos para a espécie, não apresentando diferença estatisticamente significativa entre os momentos de avaliação paramétrica, sem a produção de depressão respiratória atribuída às administrações subaracnóides dos opióides hiperbáricos, fato este que pode ser comprovado pela análise hemogasométrica.

STOELTING (1999) reporta que opióides agonistas *mu* como o fentanil e seus análogos podem produzir bradicardia significativa e ocasionalmente hipotensão quando utilizados pela via intravenosa em pacientes humanos. Já a morfina e meperidina, são conhecidas por liberarem histamina quando utilizadas pela via intravenosa, conduzindo à hipotensão (SINATRA et al., 1992; STOELTING, 1999).

Em cavalos, a administração intravenosa de opióides como a morfina, meperidina, metadona e oximorfona, e opióides agonistas parciais como a pentazocina, resulta em um aumento da frequência cardíaca, débito cardíaco e pressão arterial dependente do agente utilizado. COUSINS & MATHER (1984), relatam que a administração epidural de opióides em pacientes da espécie humana, produz mínimos efeitos adversos cardiovasculares, já em cavalos, os efeitos podem ser diferenciados, pois se baseando em resultados obtidos por SYSEL et al. (1996), que utilizaram a associação de morfina (0,2mg/kg) e detomidina (0,03mg/kg) pela via epidural, pode-se notar que a técnica produziu significativo decréscimo na frequência cardíaca, embora tenha sido difícil concluir qual dos fármacos foi responsável pela produção de bradicardia. No presente estudo, mostrou-se que a morfina hiperbárica, metadona hiperbárica e a buprenorfina hiperbárica, não produziram depressão da função cardiovascular. As diferenças observadas nas pressões arteriais nesta pesquisa, não foram estatisticamente significativas em relação aos valores basais de referência, estando dentro de limites aceitáveis como fisiológicos para a espécie eqüina, e baseia-se a explicação deste fato à farmacologia e à farmacocinética dos opióides hiperbáricos utilizados, que devido à alta baricidade, deva manter-se restrito a receptores da medula espinhal, evitando a absorção sistêmica.

Estudos prévios em cavalos têm se limitado a administração de opióides pela via epidural (NATALINI & ROBINSON, 2000; OLBRICH & MOSING, 2003). KAMERLING et al. (1988), relatam a ocorrência de excitação do SNC após administração intravenosa de opióides em cavalos. Quando utilizados pela via intravenosa, narcóticos como a morfina, fentanil, pentazocina, metadona e hidromorfona são potentes estimulantes locomotores por excitarem o SNC em cavalos. Os mecanismos responsáveis pela excitação do SNC ainda não são totalmente esclarecidos, embora pareçam estar relacionados à ativação de vias dopaninérgicas bem como de outros neurotransmissores como a acetilcolina, norepinefrina, e o ácido gama-aminobutírico. Resultados de estudos realizados em cavalos por TOBIN & MILLER (1979) e COMBIE et al. (1981), indicaram que a inibição das catecolaminas e a inibição de antagonismo de opióides pelo naloxone podem bloquear a excitação do SNC. A ausência de excitação do SNC dos cavalos no presente estudo pode ser explicada pelo efeito segmentar da solução hiperbárica sem a migração da substância para regiões supra-espinhais do SNC somado à lenta transferência do opióide do sítio de injeção ao líquido cérebro-espinhal,

considerando que há uma rápida ocupação dos receptores opióides cerebrais após uma administração intravenosa de opióide ou uma administração subaracnóide de opióide isobárico.

O volume tipicamente recomendado para uma injeção epidural em cavalo varia de 10 a 15mL, independentemente do fármaco ou associações de fármacos utilizadas (SKARDA & MUIR, 1983). HENDRICKSON et al. (1998), comentam que grandes volumes de fluídos injetados no interior do espaço epidural, podem induzir ataxia dos membros posteriores devido à compressão das terminações nervosas. No estudo aqui realizado, especialmente em um animal, observamos desconforto durante a injeção subaracnóide, embora tenha sido administrado como volume total 5mL. Acredita-se que o desconforto experimentado, possa ter sido fruto do resultado da natureza hiperbárica da solução em relação ao líquido cérebro-espinhal. HARE & NGAN (1998), definem que a baricidade de um agente para a administração subaracnóide é a densidade deste agente em relação ao líquido cérebro-espinhal a uma temperatura específica. Sendo assim, uma solução que é mais densa que o líquido cérebro-espinhal pode produzir desconforto quando em contato com a medula espinhal devido a sua baricidade. Uma solução “pesada” pode alcançar a medula espinhal rapidamente, e mecanicamente produzir desconforto.

NATALINI & ROBINSON (1999), num estudo onde investigaram a os efeitos da cateterização subaracnóide lombo-sacra em cavalos, relataram a técnica de acesso e cateterização a qual foi seguida no presente estudo. Estes autores, concluíram que a referida técnica foi eficaz e de realização plenamente viável em condições clínicas, fato este confirmado nesta pesquisa, onde obtivemos m sucesso de 100% nas cateterizações.

Na espécie humana, há relato de que a administração epidural de água destilada estéril cause efeito neurotóxico na medula espinhal (STOELTING, 1999). Em extensa revisão de literatura, não se encontrou citação de que a glicose a 10% apresente efeito neurotóxico. Decorrido um tempo posterior há 48 horas após a administração subaracnóide das substâncias hiperbáricas testadas, não foram observados sinais de ataxia ou comprometimento motor. Após o término deste estudo, por se tratar de uma pesquisa “não terminal”, não se examinou as medulas espinhais dos cavalos envolvidos na experimentação, uma vez que todos os animais retornaram ao rebanho de pesquisa.

COUSINS & MATHER (1984), comentam de outro aspecto importante em relação à segurança da administração subaracnóide de opióides e sua compatibilidade com o líquido cérebro-espinhal e o tecido neural. Soluções de opióides destinadas para uso subaracnóide como morfina, metadona e buprenorfina em solução salina a 0,9%, tem pH na faixa de 4,52 a 6,85, e quando em combinação com o líquido cérebro espinhal, baixaram o pH deste em  $\leq 0,3$ .

No presente estudo, utilizou-se opióides contendo conservantes em sua formulação, não havendo sinais de neurotoxicidade aguda, e embora COUSINS & MATHER (1984), relatem que as soluções livres de conservantes sejam as mais indicadas, estudos em animais têm mostrado que injeções repetidas, através de cateter epidural, de opióides contendo conservante na sua constituição não apresentam risco potencial de causar alterações histológicas na medula espinhal.

Relaxamento da musculatura cervical com abaixamento da cabeça tem sido descrito como evidência de sedação em cavalos após receberem morfina (0,05 e 0,1mg/kg) pela via epidural (NATALINI & ROBINSON, 2000; ROBINSON & NATALINI, 2002). Sinais de sedação não foram observados no atual estudo, sendo que este fato pode ser explicado pela baricidade da solução utilizada em relação ao líquido cérebro espinhal, resultando em migração mínima ou nula do opióide hiperbárico ao cérebro. COUSINS & MATHER (1984), relatam, que soluções isobáricas de metadona e buprenorfina pela via subaracnóide na espécie humana, provavelmente não produzam sedação devido a estes agentes serem mais lipossolúveis que a morfina, havendo absorção por tecido adiposo antes que alcancem o SNC, porém, quando uma solução isobárica de morfina é administrada, há sedação como resultado da migração cranial do fármaco. O fato de não haver diferença significativa nos valores registrados em relação a altura da cabeça em relação ao solo nos cavalos deste estudo, reforçam a ausência de sedação com as técnicas analgésicas experimentadas.

Estudos pioneiros utilizando estimulação elétrica como nocicepção, têm mostrado que ausência de resposta a estímulos com valores maiores ou iguais a 40 Volts corresponde a analgesia profunda, podendo-se comparar tal estímulo a uma incisão de pele (NATALINI & ROBINSON, 2000). A taxa de estimulação de 10V/s utilizada no presente estudo, foi considerada apropriada devido aos cavalos terem tempo o suficiente para se recuperarem da estimulação seriada. Um tempo de estimulação total de 1 a 3 minutos foi necessário para cada série de estimulação,

porém uma estimulação em tempo menor ou igual a 60 segundos foi aplicada em cada dermatomo.

Em um estudo na espécie humana, LUI et al. (1998), descrevem que a baricidade da solução influencia diretamente na expansão do fármaco e na altura do bloqueio, sendo que a gravidade propicia a descida da solução hiperbárica, enquanto que soluções hipobáricas ascendem em relação ao ponto de injeção. Já soluções isobáricas, não sofrem interferência da gravidade. Opióides lipossolúveis se acoplam a receptores na medula espinhal, enquanto que soluções hidrossolúveis como a morfina permanecem diluídas no líquido cérebro-espinhal, retardando o início da ação (SKARDA & MUIR, 1983), fato este não observado no estudo aqui relatado, sendo que a hipótese sugerida, seja de que a alta densidade dos opióides que se utilizou, produziu um rápido início de ação dos fármacos lipossolúveis (metadona e buprenorfina) e do fármaco hidrossolúvel (morfina), não permitindo altas taxas de diluição no líquido cérebro-espinhal. Num estudo realizado em ovinos, PAYNE et al. (1996), descreveram que opióides lipofílicos isobáricos como a metadona, exercem seu efeito predominantemente no tecido próximo ao sítio de administração, diferentemente de agentes hidrofílicos isobáricos como a morfina, devido ao efeito de diluição no líquido cérebro-espinhal. Outro fato de importância a ser citado, seria que substâncias hiperbáricas ligam-se rapidamente a receptores na medula como resultado da rápida descida do agente devido a sua baricidade, e como os cavalos permaneceram em estação após a administração dos opióides hiperbáricos sobre a medula espinhal, um fluxo descendente proporcionou o rápido contato dos fármacos utilizados com a medula espinhal. Devido a este fato, o imediato contato da morfina hiperbárica com os receptores da medula espinhal após a injeção subaracnóide, proporcionou um rápido início de efeito, menor do que o tempo de início de ação da administração epidural citado num estudo realizado por NATALINI & ROBINSON (2000). A migração tanto cranial como caudal da metadona hiperbárica, buprenorfina hiperbárica e morfina hiperbárica pode ser inferida pelo aumento do limiar doloroso ao estímulo elétrico observado cranialmente e caudalmente ao sítio de injeção. Entretanto, o fato de que 5 minutos após a administração subaracnóide dos agentes opióides hiperbáricos, termos observado intenso efeito analgésico em todos os dermatomos, permite sugerir que opióides hiperbáricos não sofrem apenas influência da gravidade devida sua baricidade, uma vez que atuaram em receptores craniais e caudais ao local de injeção.

A buprenorfina hiperbárica mostrou efeito analgésico moderado, e isto pode ser explicado pelas suas características farmacológicas. COWAN (2003) classifica a buprenorfina como um opióide agonista parcial, com alta afinidade por receptores  $\mu$ -opióides, apresentando dissociação lenta. A classificação inferida como analgesia moderada pode ser explicada pelo limiar de estimulação elétrica ter sido menor do que 40 V em todos os dermatômos.

Já, a morfina e a metadona hiperbáricas, produziram significativo aumento do limiar doloroso à estimulação nociceptiva elétrica aos 5 minutos após a injeção subaracnóide. O rápido início de ação destes agentes quando comparado com a administração epidural caudal de morfina isobárica, pode ser atribuído às suas características farmacocinéticas de hidrossolubilidade e lipossolubilidade (STOELTING, 1999). Em um estudo JACOBSON et al. (1990), compararam a administração intratecal de morfina e metadona em seres humanos submetidos à prótese de joelho ou quadril, e ambas as substâncias produziram excelente efeito analgésico, porém a morfina mostrou efeito mais prolongado que a metadona. NATALINI & ROBINSON (2000), utilizando morfina isobárica pela via epidural caudal em cavalos, obtiveram um tempo de efeito de 8 a 19 horas, sendo que obtiveram analgesia mais pronunciada nos dermatômos próximos ao sítio de administração, e analgesia menos intensa nos dermatômos lombares e torácicos. Tais autores sugerem que o efeito de diluição do agente opióide no líquido cérebro-espinhal seja um dos efeitos que resulte em um número reduzido de moléculas de morfina disponíveis para ligação com os receptores na região lombar e torácica da medula espinhal. COUSINS & MATHER (1984), acrescentam que a duração do efeito após a administração subaracnóide do opióide é influenciada pelo número de moléculas retidas no líquido cérebro-espinhal e no tecido espinhal, bem como a dissociação cinética do fármaco. No presente estudo, a morfina produziu efeito mais prolongado do que a metadona e a buprenorfina sobre os dermatômos da região torácica. A morfina apresenta maior valor de dissociação cinética que a metadona e a buprenorfina, o que pode explicar o maior tempo de ação, entretanto, um fato que não se conseguiu justificar é o porquê que o mesmo efeito não tenha sido notado nos dermatômos das regiões perineal, sacral e lombar. Um fato de importância, é que se desconhece se a solução de glicose a 10% utilizada para o preparo das soluções hiperbáricas, possa alterar o valor da cinética da dissociação da morfina,

metadona e buprenorfina, uma vez que poderia afetar a intensidade e o tempo de efeito analgésico.

## 6. CONCLUSÕES

O modelo experimental *in vitro* desenvolvido é eficiente para a avaliação do comportamento físico de substâncias no líquido cérebro-espinhal de cavalos;

A técnica de cateterização subaracnóide utilizada permitiu 100% de sucesso, sendo plenamente aplicável em casos clínicos futuros, não limitando sob hipótese alguma a utilização da via subaracnóide em cavalos;

A injeção subaracnóide de 0,01mg/kg de morfina ou metadona hiperbáricas produz intensa analgesia por um período de 120 minutos nos dermatomos das regiões perineal, sacral, lombar e torácica, sem induzir efeitos de depressão cardiorrespiratória, ataxia ou excitação do SNC em cavalos;

A administração subaracnóide de 0,001mg/kg de buprenorfina hiperbárica não produz depressão cardiorrespiratória, ataxia ou excitação do SNC, e confere analgesia moderada nos dermatomos das regiões perineal, sacral, lombar e torácica.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AANONSEN, L.M.; WILCOX, G.L. Muscimol, gamma-aminobutyric acidA receptors and excitatory amino acids in the mouse spinal cord. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 248, n. 3, p. 1034-1038, 1988.

AIMONE, L.D. Neurochemistry and modulation of pain. In: SINATRA, R.S.; HORD, A.H. GINSBERG, B. ed. **Acute Pain: Mechanisms & Management**, St. Louis: Mosby – Year Book, 1992, p. 29-43.

ANGLE, P.J.; KRONBERG, J.E.; THOMPSON, D.E.; DUFFIN, J.; FAURE, P.; BALASUBRAMANIAM, S.; SZALAI, J.P.; CROMWELL, S. Epidural catheter penetration of human dural tissue. In vitro investigation. **Anesthesiology**, v. 100, n. 6, p. 1491-1496, 2004.

ATWEH, S.F.; KUCHAR, M.J. Autoradiographic localization of opiate receptors in rat brain. I. Spinal cord and lower medulla. **Brain Research**, v. 124, n. 1, p. 53-67, 1977.

BARANGE, A.G.; FOREMAN, J.H.; LAWRENCE, L.M. Effects of single dose intravenous phenylbutazone on lameness in the horse: a preliminary report. In: Sixty-ninth Annual Meeting of the Conference of Research Workers in Animal Disease, 1988.

BEITZ, A.J. Anatomic and chemical organization of descending pain modulation systems. In: SHORT, C.E.; VAN POZNAK, A. **Pain**. New York: Churchill Livingstone, 1992, p. 31-62.

BENNETT, G.J. MAUYER, D.J. Inhibition of spinal cord interneurons by narcotic microinjection and focal electrical stimulation in the periaqueductal central gray matter. **Brain Research**, v. 172, n. 2, p. 243-257, 1979.

BONICA, J.J. Pain research and therapy: history, current status, and future goals. In: SHORT, C.E.; VAN POZNAK, A. ed. **Animal Pain**. New York: Churchill Livingstone, 1992, p. 1-30.

BRUNSON, D.B.; COLLIER, M.A.; SCOTT, E.A.; MAJORS, L.J. Dental dolorimetry for the evaluation of an analgesic agent in the horse. **American Journal of Veterinary Research**, v. 48, n. 7, p. 1082-1086, 1987.

CAMERON, A.A.; LEAH, J.D.; SNOW, P.J. The coexistence of neuropeptides in feline sensory ganglia. **Neuroscience**, v. 27, n. 3, p. 969-979, 1988.

CHIZH, B.A.; SCHLUTZ, H.; SCHEEDE, M.; ENGLBERGER, W. The N-methyl-D-aspartate antagonistic and opioid components of d-methadone antinociception in the rat spinal cord. **Neuroscience letters**, v. 296, n. 2-3, p. 117-120, 2000.

CLARK, J.O.; CLARK, T.P. Analgesia. **Veterinary Clinics of North America: Equine Veterinary Practice**, v. 15, p. 705-723, 1999.

CLARK, L.; CLUTTON, R.E.; BLISSITT, K.J.; CHASE-TOPPING, M.E. Effects of peri-operative morphine administration during halothane anaesthesia in horses. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, n. 32, n. 1, p. 10-15, 2005.

CLARKE, K.W.; PATON, B.S. Combined use of detomidine with opiates in the horse. **Equine Veterinary Journal**, v. 20, n. 5, p. 331-334, 1988.

COMBIE, J.; DOUGHERTY, J.; NUGENT, C.E. et al. The pharmacology of narcotic analgesics in the horse. IV Dose and time response relationships for behavioral responses to morphine, meperidine, pentazocine, anileridine, methadone and hydromorphone. **Journal Equine Medical Surgery**, v.3, p. 377-385, 1979.

COMBIE, J.; DOUGHERTY, J.; NUGENT, C.E.; et al. The pharmacology of narcotic analgesic in the horse. IV. Dose and time response relationships for behavioral responses to morphine, meperidine, pentazocine, anileridine, methadone and hydromorphone. **Journal Equine Medical Surgery**, v. 00, n. 3, p. 377-385, 1979.

COMBIE, J.; SHULTS, T.; NUGENT, E.C., DOUGHERTY, J.; TOBIN, T. Pharmacology of narcotic analgesics in the horse: selective blockade of narcotic-induced locomotor activity. **American Journal of Veterinary Research**, v.42, n.5, p. 716-721, 1981.

CORLETTO, F.; RAISIS, A.A., BREARLEY, J.C. Comparison of morphine and butorphanol as pre-anesthetic agents in combination with romifidine for field

castration in ponies. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, n. 32, n. 1, p. 16-22, 2005.

COUSINS, M.J.; MATHER, L.E. Intrathecal and epidural administration of opioids. **Anesthesiology**, v. 61, n. 3, p. 276-310, 1984.

COWAN, A. Buprenorphine: new pharmacological aspects. **International Journal of Clinical Practice. Supplement**, v. 133, p. 3-8, 2003.

De ROSSI, R.; SAMPAIO, B.F.; VARELA, J.V.; JUNQUEIRA, A.L. Perineal analgesia and hemodynamic effects of the epidural administration of meperidina or hyperbaric bupivacaína in conscious horses. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 45, n. 1, p. 42-47, 2004.

DOHERTY, T.J.; GEISER, D.R.; ROHRBACH, B.W. Effects of high volume epidural morphine, ketamine and butorphanol on halothane minimum alveolar concentration in ponies. **Equine Veterinary Journal**, v.29, n.5, p. 370-373, 1997.

ELDE, R.; HOKFELT, T.; JOHANSSON, O.; TERENIUS, L. Immunohistochemical studies using antibodies to leucine-enkephalin: initial observations on the nervous system of the rat. **Neuroscience**, v.1, n. 4, p. 349-351, 1976.

FIELDS, H.L.; BASBAUM, A.I. Brainstem control of spinal pain-transmission neurons. **Annual Review of Physiology**, v. 40, p. 217-248, 1978.

FULTON, J.F. Muscular contraction and the reflex control movement. Baltimore: Williams & Wilkins, 1926.

GO, V.L.W.; YAKSH, T.L. Release of substance P from the cat spinal cord. **The Journal of Physiology**, v. 391, p. 141-167, 1987.

GOETZ, A.M.; ROGERS, P.L.; SCHLICHTIG, R.; MUDER, R.R.; DIVEN, W.F.; PRIOR, R.B. Adult respiratory distress syndrome associated with epidural fentanyl infusion. **Critical Care Medicine**, v. 23, n. 9, p. 1606-1608, 1994.

GOMEZ DE SEGURA, I., DE ROSSI, R., SANTOS, M., et al. Subarachnoid injection of ketamine for perineal analgesia in the horse. **Veterinary Surgery**, v.27, n. 4, p.384-391, 1998.

GOODCHILD, C.S.; SERRAO, J.M. Intrathecal midazolam in the rat: evidence for spinally-mediated analgesia. **British Journal of Anesthesia**, v. 59, n. 12, p. 1563-1570, 1987.

HAMON, M.; BOURGOIN, S.; LeBARS, D.; CESSELIN, F. In vivo and in vitro release of central neurotransmitters in relation to pain and analgesia. **Brain Research**, v. 77, p. 431-444, 1988.

HARE, G.M.T.; NGAN, J.C.S. Density determination of local anaesthetic opioid mixtures for spinal anaesthesia. **Canadian Journal of Anaesthesia**, v. 45, n. 4, p. 341-346, 1998.

HARMANN, P.A.; CARLTON, S.M.; WILLIS, W.D. Collaterals of spinothalamic tract cells to the periaqueductal gray: a fluorescence double-labeling study in the rat. **Brain Research**, v. 441, n. 1-2, p. 87-97, 1988.

HEADLEY, P.M.; DUGGAN, A.W.; GRIERSMITH, B.T. Selective reduction by noradrenaline and 5-hydroxytryptamine of nociceptive responses of cat dorsal horn neurons. **Brain Research**, v. 145, n 1, p. 185-189, 1978.

HOKFELT, T. KELLERTH, J.O.; NILSSON, G.; PERNOW, B. Experimental immunohistochemical studies on the localization and distribution of substance P in cat primary sensory neurons. **Brain Research**, v. 100, n. 2, p. 235-252, 1975.

HUBBELL, J.A.E.; MUIR, W.W. 3 ed. Emergency analgesia and chemical restraint in the horse. **Veterinary Clinics of North America. Equine Practice**, v. 10, n. 3, p. 503-516, 1994.

HUTCHINSON, W.D.; MORTON, C.R.; TERENIUS, L. Dinorphin A: in vivo release in the spinal cord of the cat. **Brain Research**, v. 532, n. 4, p. 299-306, 1990.

HYLDEN, J.L.K.; WILCOX, G.L. Intrathecal substance P elicited a caudally-directed biting and scratching behavior in mice. **Brain Research**, v. 217, n.1, p. 212-215, 1981.

JACOBSON, L.; CHABAL, C.; BRODY, M.C.; WARD, R.J.; WASSE, L. Intrathecal methadone: a dose-response study and comparison with intrathecal morphine 0,5mg. **Pain**, v. 43, n. 2, p. 141-148, 1990.

JENSEN, T.S.; YAKSH, T.L. Comparison of the nociceptive action of mu and delta opioid receptor ligands in the periaqueductal gray matter, medial and paramedial ventral medulla in the rat as studied by microinjection technique. **Brain Research**, v. 372, n. 2, p. 1742-1747, 1986.

JENSEN, T.S.; YAKSH, T.L. The antinociceptive activity of excitatory amino acids in the rat brainstem: an anatomical and pharmacological analysis. **Brain Research**, v. 569, n. 2, p. 255-267, 1992.

JOCHLE, W.; HAMM, D. Sedation and analgesia with Domosedan (detomidine hydrochloride) in horses: dose response studies on efficacy and its duration. **Acta Veterinaria Scandinavica Supplement**, v.82, p. 69-84, 1986.

JONES, S.L. Anatomy of pain. In: SINATRA, R.S.; HORD, A.H. GINSBERG, B. et al., ed. **Acute Pain: Mechanisms & Management**. St. Louis: Mosby – Year Book, 1992, p. 8-28.

JONES, S.L.; GEBHART, G.F. Inhibition of spinal nociceptive transmission from the midbrain, pons and medulla in the rat: activation of descending inhibition by morphine, glutamate and electrical stimulation. **Brain Research**, v. 460, n. 2, p.281-296, 1988.

KAMERLING, S.G.; DeQUICK, D.J.; WECHMAN, T.J.; TOBIN, T. Dose-related effects of fentanyl on autonomic and behavioral responses in performance horses. **General Pharmacology**, v.16, n. 3, p. 253-258, 1985.

KAMERLING, S.G.; WECKMAN, T.; DONAHOE, J.; TOBIN, T. Dose related effects of the *kappa* agonist U-50, 488H on behavior, nociception and autonomic response in the horse. **Equine Veterinary Journal**, v. 20, n. 2, p. 114-118, 1988.

KAMERLING, S.G.; WECKMAN, T.J.; DEQUICK, D.J.; TOBIN, T. A method for studying cutaneous pain perception and analgesia in horses. **Journal of Pharmacological Methods**, v.13, n. 3, p. 267-274, 1985.

KAMERLING, S.G.; WOOD, T.; DeQUICK, D.J. WECKMAN, T.J.; TAI, C.; BLAKE, J.W.; TOBIN, T. Narcotic analgesics, their detection and pain measurement in the horse: A review. **Equine Veterinary Journal**, v. 21, p. 4-12, 1989.

KANGRGA, I.; LAREW, J.S., RANDIC, M. The effects of substance P and calcitonin gene-related peptide on the efflux of endogenous glutamate and aspartate from rat spinal dorsal horn in vitro. **Neuroscience Letters**, v. 108, n. 1-2, p. 155-160, 1990.

KERR, D.D.; JONES, E.W.; HUGGINS, K.; EDWARDS, W.C. Sedative and other effects of xylazine given intravenously to horses. **American Journal of Veterinary Research**, v. 33, n. 3, p. 525-532, 1972.

KITCHELL, R.L. Problems in defining pain and peripheral mechanisms of pain. **Journal American Veterinary Medical Association**, v. 191, n. 10, p. 1195-1199, 1987.

KLEIN, L.V.; BAETJER, C. Preliminary report: xylazine and morphine sedation in horses. **Veterinary Anaesthesia**, v.2, n.1, p. 2-9, 1974.

KLIDE, A.M. Anatomy of the spinal cord and how the spinal cord is affected by local anesthetics and other drugs. **Veterinary Clinics of North América**, , v. 22, n. 2, p. 413-416, 1992.

KUUSNIEMI, K.S.; PIHLAJAMÄKI, K.K.; PITKÄNEM, M.T. A low dose of plain or hyperbaric bupivacaine for unilateral spinal anesthesia. **Regional Anesthesia and Pain Medicine**, v. 25, n. 6, p. 605-610, 2000.

LEWIS, J.W.; CANNON, J.T.; LIEBESKIND, J.C. Opioid and non-opioid mechanisms of stress analgesia. **Science**, v. 208, p. 623-625, 1980.

LOWE, J.E. HILFIGER, J. Analgesic and sedative effects of detomidine compared to xylazine in a colic model using IV and IM routes of administration. **Acta Veterinaria Scandinavica**, p. 82-85, 1986.

LOWE, J.E. Pentazocine (Talwin-V) for the relief of abdominal pain in ponies – a comparative evaluation with description of a colic model for analgesia evaluation. **Procedure American Association Equine Practice**, v. 11, p.31.

LOWE, J.E. Xylazine, pentazocine, meperidine and dipyron for relief of balloon induced equine colic: a double blind comparative evaluation. **Journal Equine Medical Surgery**, v.2, p.286-291, 1978

LOWE, J.E.; SELLERS, A.F.; BRONDUM, J. Equine pelvic flexure impaction. A model used to evaluate motor events and compare drug response. **Cornell Veterinary**, v. 70, n. 4, p. 401-412, 1980.

LUI, A.C.P.; POLIS, T.Z.CICUTTI, N.J. Densities of cerebrospinal fluid and spinal anaesthetic solutions in surgical patients at body temperature. **Canadian Journal of Anaesthesia**, v. 45, n. 4, p. 297-303, 1998.

MAMA, K.R.; PASCOE, P.J.; STEFFEY, E.P. Evaluation of the interaction of mu and kappa opioid agonists on locomotor behavior in the horse. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 57, n. 2, p. 106-109, 1993.

MATHEWS, N.S. A review of equine pain models. In: SHORT, C.E.; VAN POZNAK, A. ed. **Animal Pain**. New York: Churchill Livingstone, 1992, p. 403-407.

McCARSON, K.E.; GOLDSTEIN, B.D. Time course of the alteration in dorsal horn substance P levels following formalin: blockade by naloxone. **Pain**, v. 41, n. 1, p. 95-100, 1990.

McELLISTREM, R.F.; BENNINGTON, R.G.; ROTH, S.H. *In vitro* determination of human dura mater permeability to opioids and local anaesthetics. **Canadian Journal of Anaesthesia**, v. 40, n. 2, p. 165-169, 1993.

MURRAY, C.W.; COWAN, A.; LARSON, A.A. Neurokinin and NMDA antagonists (but not a kainic acid antagonist) are antinociceptive in the mouse formalin model. **Pain**, v. 44, n. 2, p. 179-185, 1991.

NATALINI, C.C.; ROBINSON, E.P. Effects of lumbosacral subarachnoid catheterization in horses. **Veterinary Surgery**, v.28, n.6, p. 525-528, 1999.

NATALINI, C.C.; ROBINSON, E.P. Evaluation of the analgesic effects of epidurally administered morphine, alfentanil, butorphanol, tramadol, and U50488H in horses. **American Journal of Veterinary Research**, v. 61, n. 12, p. 1579-1586, 2000.

NOLAN, A.M.; BESLEY, W.; REID, J.; GRAY, G. The effects of butorphanol on locomotor activity in ponies: a preliminary study. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 17, n. 4, p. 323-326, 1994.

OHARA, H.; NAMIMATSU, A.; FUKUHARA, K.; YAGO, H.; YONEDA, R.; SAITO, K.; INOKI, R. Release of inflammatory mediators by noxious stimuli: effect of neurotropin on the release. **European Journal Pharmacology**, v. 157, n. 1, p. 93-99, 1988.

OLBRICH, V.H.; MOSING, M. A comparison of the analgesic effects of caudal epidural methadone and lidocaine in the horse. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v.30, n.3, p. 156-164, 2003.

PABLO, L.S. Epidural morphine in goats after hindlimb orthopedic surgery. **Veterinary Surgery**, v. 22, n. 4, p.141-147, 1993.

PADDLEFORD, R.R. **Manual of small animal anesthesia**. Philadelphia: Saunders, 1999, 957p.

PAYNE, R.; GRADERT, T.L.; INTRURRISI, C.E. Cerebrospinal fluid distribution of opioids after intraventricular & lumbar subarachnoid administration in sheep. **Life Sciences**, v. 59, n. 16, p. 1307-1321, 1996.

PERT, C.B.; KUCHAR, M.J.; SNYDER, S.H. Opiate receptor: autoradiographic localization in rat brain. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 73, n. 10, p. 3729-3733, 1976.

PIPPI, N.L.; LUMB, W.V. Objective tests of analgesic drugs in ponies. **American Journal of Veterinary Research**, v. 40, n. 8, p. 1082-1086, 1979.

PIPPI, N.L.; LUMB, W.V.; FIALHO, S.A.G. et al. A model for evaluating pain in ponies. **Journal Equine Medicine Surgery**, v.3, p. 430-435, 1979.

RANDIC, M. YU, H.H. Effects of 5-hydroxytryptamine and bradykinin in cat dorsal horn neurones activated by noxious stimuli. **Brain Research**, v. 111, n 1, p. 197-203, 1976.

REICHLING, D.B.; KWIAT, G.C.; BASBAUM, A.I. Anatomy, physiology and pharmacology of the periaqueductal gray contribution to antinociceptive controls. **Progress in Brain Research**, v. 77, p. 31-46, 1988.

RICHARDSON, M.G.; HUBERT, V.C.; WISSLER, R.N. Intrathecal hypobaric versus hyperbaric bupivacaine with morphine for cesarean section. **Anesthesia and Analgesia**, v. 87, n. 2, p. 336-340, 1998.

ROBINSON, E.P. Preferential dermatomal analgesic effects of epidurally administered morphine in horses. **Animal Pain and Its Control**. University of Sydney, p. 417-421, 1994.

ROBINSON, E.P.; NATALINI, C.C. Epidural anesthesia and analgesia in horses. **Veterinary Clinics of North America. Equine Practice**, v. 18, n. 1, p. 61-82, 2002.

ROBINSON, R.A.; STEWART, S.F.C.; MYERS, M.R.; LIEN, L.F.; RINALDI, J.R.; SWISHER, J.L.; DRASNER, K. In vitro modeling of spinal anesthesia. A digital video image processing technique and its application to catheter characterization. **Anesthesiology**, v. 81, n. 4, p. 1053-1060, 1994.

SAWYNOK, J.; SWEENEY, M.I.; WHITE, T.D. Classification of adenosine receptors mediating antinociception in the rat spinal cord. **British Journal of Pharmacology**, v. 88, n. 4, p. 923-930, 1986.

SCHELLING, C.G.; KLEIN, L.V. Comparison of carbonated lidocaine and lidocaine hydrochloride for caudal epidural anesthesia in horses. **American Journal of Veterinary Research**, v. 46, n. 6, p. 1375-1377, 1985.

SCHNEIDER, S.P.; PERL, E.R. Selective excitation of neurons in the mammalian spinal cord by aspartate and glutamate in vitro: correlation with location and excitatory input. **Brain Research**, v. 360, n. 1-2, p. 339-343, 1985.

SHERRINGTON, C.S. SOWTON, S.C.M. Observation on reflex responses to single break-shocks. **Journal Physiology**, v.49, p. 331-348, 1915.

SINATRA, R.S.; HORD, A.H. GINSBERG, B.; PREBLE, L., ed. **Acute Pain: Mechanisms & Management**, St. Louis: Mosby – Year Book, 1992, p. 102-111.

SKARDA, R.T.; MUIR, W.W. Analgesic, behavioral, and hemodynamic and respiratory effects of midsacral subarachnoidally administered ropivacaine hydrochloride in mares. **Veterinary Analgesia and Anesthesia**, v. 30, n. 1, p. 37-50, 2003.

SKARDA, R.T.; MUIR, W.W. Analgesic, hemodynamic, and respiratory effects of caudal subarachnoidly administered xylazine hydrochloride solution in mares. **American Journal of Veterinary Research**, v.57, n. 2, p.193-200, 1996.

SKARDA, R.T.; MUIR, W.W. Continuous caudal epidural and subarachnoid anesthesia in mares: a comparative study. **American Journal of Veterinary Research**, v. 44, n. 12, p. 2290-2298, 1983.

SKARDA, R.T.; MUIR, W.W. Segmental epidural and subarachnoid analgesia in conscious horses: A comparative study. **American Journal of Veterinary Research**, v. 44, n. 10, p. 1870-1876, 1983.

SKARDA, R.T.; MUIR, W.W. Segmental thoracolumbar spinal (subarachnoid) analgesia in conscious horses. **American Journal of Veterinary Research**, v. 43, n. 12, p. 2121-2128, 1982.

SKILLING, S.R.; SMULIN, D.H.; BEITZ, A.J.; LARSON, A.A. Extracellular amino acid concentrations in the dorsal horn spinal cord of freely moving rats following veratridine and nociceptive stimulation. **Journal of Neurochemistry**, v. 51, n. 1, p. 127-132, 1988.

SMULLIN, D.H., SKILLING, S.R.; LARSON, A.A. Interaction between substance P, calcitonin gene-related peptide, taurine and excitatory amino acids in the spinal cord. **Pain**, v. 42, n. 1, p. 93-101, 1990.

SOSNOWSKI, M.; STEVENS, C.W.; YAKSH, T.L. Assessment of the role of A1/A2 adenosine receptors mediating the purine antinociception, motor and autonomic function in the spinal cord. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 250, n. 3, p. 915-922, 1989.

STEFFEY, E.P.; HOWLAND, D.; GIRI, S.; EGER, E.I. Enflurane, halothane, and isoflurane potency in horses. **American Journal of Veterinary Research**, v. 38, n. 7, p. 1037-1039, 1977.

STOELTING, R.K. **Pharmacology and physiology in anesthetic practice**. 3.ed., Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1999, p. 77-112.

SYSEL, A.M.; PLEASANT, S.R.; JACOBSON, J.D.; MOLL, H.D.; MODRANSKY, P.D.; WARNICK, L.D.; SPONENBERG, D.P.; EYRE, P. Efficacy of an epidural combination of morphine and detomidine in alleviating experimentally induced hindlimb lameness in horses. **Veterinary Surgery**, v. 25, n. 6, p. 511-518, 1996.

SZABUNIEWICS, M.; SZABUNIEWICS, J.M. Use of hoof tester in diagnosing lameness in horses. **Veterinary Medical Small Animal Clinics**, v. 70, n. 2, p. 205-212, 1975.

TOBIN, T. Drugs and performance horse. Springfield: Charles C. Publisher, 1981, p. 199-215.

TOBIN, T. **Drugs and the performance horse**. Springfield: Charles C. Thomas Publisher, 1981, 455p.

TOBIN, T., MILLER, J.R. The pharmacology of narcotic analgesic in the horse. I. The detection, pharmacokinetics and urinary clearance times of pentazocine. **Journal Equine Medicine and Surgery**, v.3, p. 191-198, 1979.

TSOU, K.; JANG, C.S. Studies on the site of analgesic action of morphine by intracerebral microinjection. **Science China**, v. 13, n. 1, p. 1099-1109, 1964.

TUCHSCHERER, M.M.; SEYBOLD, V.S. Immunohistochemical studies of substance P, cholecystinin-octapeptide, and somatostatin dorsal root ganglia of the rat. **Neuroscience**, v. 14, n. 2, p. 593-605, 1985.

VALVERDE, A.; LITTLE, C.B.; DYSON, D.H. Use of epidural morphine to relieve pain in a horse. **Canadian Veterinary Journal**, v. 31, n.4, p. 211-212, 1990.

YAKSH, T.L.; RUDY, T.A. Narcotic analgesics: CNS sites and mechanisms of action as revealed by intracerebral injection techniques. **Pain**, v.4, n.4, p. 299-359, 1978.

ZIEGLGANSBERGER, W.; BAYERL, H. The mechanism of inhibition of neuronal activity by opiates in the spinal cord of cat. **Brain Research**, v. 115, n. 1, p. 111-128, 1976.