



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**EFEITOS CLÍNICOS E FARMACOCINÉTICA DE DIFERENTES
DOSES DO TRAMADOL EM CAPRINOS SUBMETIDOS À
ORQUIECTOMIA**

TALYTA LINS NUNES

Médica Veterinária

MOSSORÓ-RN- BRASIL
DEZEMBRO-2013

TALYTA LINS NUNES

**EFEITOS CLÍNICOS E FARMACOCINÉTICA DE DIFERENTES
DOSES DO TRAMADOL EM CAPRINOS SUBMETIDOS À
ORQUIECTOMIA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural do
Semi-Árido – UFERSA, Campus de Mossoró, como parte
das exigências para a obtenção do título de Mestre em
Ciência Animal.

Orientadora: Prof. Dra. Valéria Veras de Paula -
UFERSA.

MOSSORÓ-RN- BRASIL
DEZEMBRO-2013

FICHA CATALOGRÁFICA

Ficha catalográfica preparada pelo setor de classificação e catalogação da Biblioteca “Orlando Teixeira” da UFRSA

N972d Nunes, Talyta Lins.

Efeitos clínicos e farmacocinética de diferentes doses do tramadol em caprinos submetidos à orquiectomia. / Talyta Lins Nunes. -- Mossoró, 2013.
104f.: il.

Orientadora: Prof^a. Dra. Valéria Veras De Paula

Dissertação (Mestrado em Ciência do Animal. Área de concentração em Sanidade e produção animal) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Pró-Reitoria de Pós-Graduação.

1. Caprinos. 2. Analgesia. 3. Pequenos Ruminantes. I.
Título.

CDD: 636.39

Bibliotecária: Vanessa Christiane Alves de Souza
CRB-15/452

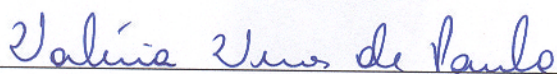
TALYTA LINS NUNES

EFEITOS CLÍNICOS E FARMACOCINÉTICOS DE DIFERENTES DOSES DO TRAMADOL EM CAPRINOS SUBMETIDOS À ORQUIECTOMIA

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural do
Semi-Árido – UFERSA, Campus de Mossoró, como parte
das exigências para a obtenção do título de Mestre em
Ciência Animal.

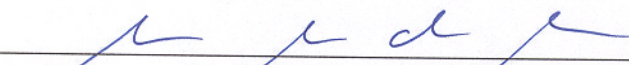
APROVADA EM __/__/__.

BANCA EXAMINADORA:



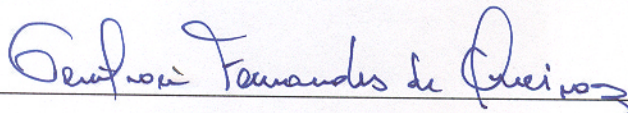
Prof^ª. Dr^ª. Valéria Veras de Paula (UFERSA)

Presidente



Prof^ª. Dr^ª. Aurigêna Antunes de Araújo (UFRN)

Primeiro Conselheiro



Prof. Dr. Genilson Fernandes de Queiroz (UFERSA)

Segundo Conselheiro

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

TALYTA LINS NUNES – Nasceu no município de Umarizal-RN no dia 04.08.1989, filha de Esivaldo Lins de Oliveira e Maria do Socorro Nunes de Oliveira, concluiu o Ensino Fundamental na Escola Estadual Paulo Abílio em Umarizal-RN, o Ensino Médio no Colégio Padrão em Mossoró-RN. Graduiu-se em Medicina Veterinária pela Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) no ano de 2011.2, onde foi bolsista Iniciação Científica e monitora da disciplina de Anestesiologia. Durante a graduação desenvolveu trabalhos com anestesia, analgesia e bem-estar animal, foco hoje de suas pesquisas. Em março de 2012 ingressou no mestrado pelo Programa de Pós Graduação em Ciência Animal (UFERSA) e sob orientação da professora Dra. Valéria Veras de Paula, realizou em setembro de 2013, ingresso automático no doutorado do programa.

À minha família, em especial aos meus pais, Esivaldo Lins de Oliveira e Maria do Socorro Nunes de Oliveira, e minha irmã Antônio Tayná Lins Nunes, pelo amor, carinho, apoio, incentivo, paciência e dedicação. Vocês são minha força e vontade de vencer.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus, meu alicerce, minha base e porto seguro, agradeço por todas as bênçãos.

À minha orientadora, Professora Valéria Veras de Paula, pelos constantes ensinamentos e conhecimentos compartilhados. Agradeço a confiança, paciência, dedicação e amizade. Minha enorme gratidão por seu exemplo e orientação, sem os quais não poderia finalizar mais esta etapa.

À professora Aurigena Antunes de Araújo, por contribuir de modo substancial durante a execução desta pesquisa. Agradeço por aceitar participar da banca e acima de tudo pela parceria, ajuda nas análises e os ensinamentos passados com paciência e maestria.

Ao professor Genilson Fernandes de Queiroz, agradeço a gentileza e disponibilidade em colaborar com o enriquecimento do trabalho ao participar das bancas desde a qualificação até a de conclusão da dissertação.

Ao professor José Perez Urizar (Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma, San Luis Potosí, México). Agradeço a enorme gentileza e colaboração durante a realização das análises farmacocinéticas.

Ao Raimundo Alves Barrêto Júnior, por toda contribuição desde a aquisição dos animais e realização das cirurgias. Seu comprometimento e ajuda foram indispensáveis para finalização desta etapa. Obrigada pelo apoio, parceria, cumplicidade, conselhos e paciência.

Aos amigos do grupo de pesquisa em anestesiologia veterinária: Amara Gyane, Alessandro Magno, Ariana Lopes, Maria Gláucia, Naftali Silva, Yanna Passos. O apoio de vocês foi fundamental para a execução deste estudo.

Aos amigos farmacêuticos Lílían Grace e Leandro Vinícius, e todos que compõem o LabMult da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, agradeço pela paciência, ensinamentos e especialmente pelo empenho durante as análises cromatográficas. Graças a simplicidade e dedicação de vocês, a realização dessa pesquisa tornou-se possível.

À CAPES e CNPq, pelo apoio financeiro.

Aos meu familiares, por cada gesto de carinho e de atenção. Agradeço especialmente meus pais, Esivaldo Lins e Socorro Nunes, e minha irmã Tayná Lins, por entender minha ausência e por todo esforço que fizeram para que eu pudesse concluir esta fase. Muito obrigada por tudo.

Aos meus pais e irmãos de coração, Djalma Lins e Fátima Santos, e Ademar, Priscilla, Pedro, agradeço pela acolhida e apoio em Mossoró. Vocês tem um papel singular nessa jornada e agradeço de verdade por toda ajuda.

À Isabella, Rociene e Alice, agradeço a amizade, força, conselhos e constante preocupação.

À cada um que contribuiu de forma direta ou indireta para a finalização deste trabalho. Muito obrigada.

EFEITOS CLÍNICOS E FARMACOCINÉTICA DE DIFERENTES DOSES DO TRAMADOL EM CAPRINOS SUBMETIDOS À ORQUIECTOMIA

NUNES, Talyta Lins. **Dose terapêutica e farmacocinética do tramadol em caprinos submetidos à orquiectomia.** 2013. 104f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal: Produção e Sanidade Animal) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2013.

RESUMO: Objetivou-se comparar os efeitos clínicos, efeitos adversos e farmacocinética do tramadol, nas doses de 2 e 4 mg.kg⁻¹, em caprinos submetidos à orquiectomia. Foram utilizados 19 caprinos adultos hígidos, distribuídos em três grupos: grupo 2 mg, onde os animais receberam tramadol na dose de 2 mg.kg⁻¹; grupo 4 mg, receberam 4 mg.kg⁻¹ do opioide e o grupo controle que recebeu NaCl 0,9%, por via intravenosa. Após administração dos tratamentos, realizou-se bloqueio anestésico com infiltração local de lidocaína, sendo os animais submetidos a orquiectomia. Avaliou-se o grau de analgesia promovido pelos tratamentos e mensurou-se as frequências cardíaca e respiratória, pressão arterial e temperatura retal. Ao se verificar sinais de dor, cetoprofeno foi administrado. Em cada momento de avaliação, sangue venoso foi colhido para determinação da farmacocinética do tramadol por meio de CLAE. Observou-se que a dose de 4 mg.kg⁻¹ promoveu maior e mais prolongada analgesia quando comparada aos demais grupos do estudo. Os animais que receberam esta dose obtiveram os menores valores dos parâmetros vitais e em 66,6% deles, medicação resgate só foi administrada 16 horas após o tratamento. Quanto a farmacocinética, não houve diferença entre os grupos. As mais elevadas concentrações plasmáticas do tramadol foram 830 e 1479 ng.ml⁻¹ para os animais que receberam a menor e maior dose do opioide. Tempo de meia vida foi de 0,28±0,21 e 0,34±0,24 horas para o tramadol nas doses de 2 e 4 mg.kg⁻¹. Houve ampla distribuição e afinidade do opioide pelos tecidos. O tramadol, na dose de 4 mg.kg⁻¹ demonstrou atividade analgésica mais satisfatória e prolongada, associada a ausência de efeitos adversos. A dose de 4 mg.kg⁻¹ é a recomendada para prevenção e tratamento da dor em caprinos submetidos à orquiectomia.

Palavras chave: Analgesia, pequenos ruminantes, opioides.

CLINICAL EFFECTS AND PHARMACOKINETICS DIFFERENT DOSES OF TRAMADOL IN GOATS SUBMITTED TO ORCHIECTOMY

NUNES, Talyta Lins. **Clinical effects and pharmacokinetics different doses of tramadol in goats submitted to orchiectomy**. 2013. 104f. Dissertation (Master in Animal Science: Animal Production and Health) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2013.

ABSTRACT: This study aimed to determine the therapeutic dose of tramadol in goats submitted to orchiectomy and to verify the pharmacokinetic parameters of the opioid in the species. Nineteen healthy adult goats were divided into three groups: Group 2 mg, where animals received tramadol at a dose of 2 mg.kg⁻¹; Group 4 mg, where animals received 4 mg.kg⁻¹ of the opioid; and Control Group which received NaCl solution at 0.9%, intravenously. After the treatment administration, lidocaine local infiltration was performed and the animals were subjected to orchiectomy. Heart and respiratory rate, blood pressure and temperature were measured besides the assessment of analgesia. At any sign of pain, ketoprofen was administered. At each time point, venous blood was collected for determination of tramadol pharmacokinetics, by HPLC means. It was observed that 4 mg.kg⁻¹ provided better and longer-lasting analgesia when compared to the other study groups. The animals that received that dose had the smallest values of the vital parameters and, in 66,6% of them, rescue medication was administered only 16 hours after treatment. As for the pharmacokinetics, there was no difference among groups. The highest plasma concentrations of tramadol were 830 and 1479 ng.ml⁻¹ for the animals receiving the lowest and highest doses of the opioid, Half-life was 0.28 ± 0.21 and 0.34 ± 0.24 hours for tramadol in doses of 2 and 4 mg.kg⁻¹, respectively. There was a wide distribution and affinity to the opioid by all tissues. Tramadol at a dose of 4 mg.kg⁻¹ demonstrated analgesic activity more satisfying and longer lasting associated with absence of side effects in goats undergoing orchiectomy.

Keywords: Analgesia, small ruminants, opioids.

LISTA DE GRÁFICOS

	Pág
Gráfico 01 – Análise multivariada dos parâmetros, em que são evidenciados a formação de clusters, demonstrando similaridade entre os grupos controle e 2 mg.kg ⁻¹ , e o distanciamento do grupo 4 mg.kg ⁻¹ . Mossoró RN, 2013.....	42
Gráfico 02 – Valores de média ± desvio padrão da frequência cardíaca dos caprinos nos diferentes momentos em todos os grupos (Controle, 2 e 4 mg.kg ⁻¹). Mossoró RN, 2013	44
Gráfico 03 – Valores de média ± desvio padrão da frequência respiratória dos caprinos nos diferentes momentos em todos os grupos (Controle, 2 e 4 mg.kg ⁻¹). Mossoró RN, 2013	45
Gráfico 04 – Valores de média ± desvio padrão da pressão arterial sistólica dos caprinos nos diferentes momentos em todos os grupos (Controle, 2 e 4 mg.kg ⁻¹). Mossoró RN, 2013	46
Gráfico 05 – Valores de média ± desvio padrão da pressão arterial diastólica dos caprinos nos diferentes momentos em todos os grupos (Controle, 2 e 4 mg.kg ⁻¹). Mossoró RN, 2013	46
Gráfico 06 – Valores de média ± desvio padrão da pressão arterial média dos caprinos nos diferentes momentos em todos os grupos (Controle, 2 e 4 mg.kg ⁻¹). Mossoró RN, 2013	47
Gráfico 07 – Valores de média ± desvio padrão da temperatura retal dos caprinos nos diferentes momentos em todos os grupos (Controle, 2 e 4 mg.kg ⁻¹). Mossoró RN, 2013	48
Gráfico 08 - Concentração plasmática do tramadol ao longo das avaliações, nas doses de 2 e 4 mg.kg ⁻¹ , administrado por via intravenosa em caprinos. Mossoró RN, 2013.....	51

LISTA DE FIGURAS

	Pág
Figura 01 – Representação gráfica da curva padrão de tramadol em plasma caprino, obtido por meio de CLAE. Mossoró RN, 2013.....	52
Figura 02 – Espectro do tramadol obtidos em quatro diferentes pontos do pico. Mossoró RN, 2013	54
Figura 03 – Visualização tridimensional do espectro do tramadol em plasma caprino, demonstrando não haver interferência dos outros componentes da matriz biológica. Mossoró RN, 2013	54
Figura 04 – Cromatograma em que são evidenciados os picos do tramadol e padrão interno, secnidazol, em plasma caprino, obtido por meio de CLAE. Mossoró RN, 2013	55
Figura 05 – Representação esquemática do modelo aberto de dois compartimentos empregado para descrever a farmacocinética do tramadol em plasma caprino. Mossoró RN, 2013	56
Figura 06 – Distribuição das concentrações do tramadol ao longo do tempo, seguindo o modelo bicompartimental, para as doses de 2 e 4 mg.kg ⁻¹ . Mossoró RN, 2013	56

LISTA DE TABELAS

	Pág
Tabela 01 - Escala de somatório de pontos para avaliação analgésica em caprinos. Mossoró, 2013	32
Tabela 02 - Valores gerais de média $\pm$ desvio padrão dos parâmetros fisiológicos e escore de dor nos diferentes grupos (Controle, 2 e 4 mg.kg ⁻¹ de tramadol). Mossoró RN, 2013	41
Tabela 03 - Tempo decorrido, em horas, entre a administração do tratamento (NaCl 0,9%, 2 e 4 mg.kg ⁻¹ de tramadol) e aplicação da medicação resgate nos diferentes grupos. Mossoró RN, 2013.....	43
Tabela 04 - Valores de média $\pm$ desvio padrão do escore de dor de caprinos tratados com NaCl 0,9% (controle), 2 e 4 mg.kg ⁻¹ de tramadol em diferentes momentos de avaliação. Mossoró RN, 2013	49
Tabela 05 - Valores de média $\pm$ desvio padrão dos parâmetros fisiológicos de caprinos nos diferentes grupos (Controle, 2 mg.kg ⁻¹ e 4 mg.kg ⁻¹ de tramadol) nos diferentes momentos. Mossoró RN, 2013	50
Tabela 06 - Valores do ensaio de precisão para as concentrações alta (20 µg.ml ⁻¹) média (2 µg.ml ⁻¹) e baixa (0,25 µg.ml ⁻¹) do tramadol obtidos por cromatografia líquida de alta eficiência. Mossoró RN, 2013.....	53
Tabela 07 - Ensaio de exatidão para as concentrações alta (20 µg.ml ⁻¹) média (2 µg.ml ⁻¹) e baixa (0,25 µg.ml ⁻¹) do tramadol obtidos por cromatografia líquida de alta eficiência. Mossoró RN, 2013	53
Tabela 08 – Parâmetros farmacocinéticos do tramadol após administração intravenosa em caprinos, nas doses de 2 e 4 mg.kg ⁻¹ . Dados expressos em média e desvio padrão. Mossoró RN, 2013	57

SUMÁRIO

	Pág
1.INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVOS	17
2.1 GERAL	17
2.2 ESPECÍFICOS	17
3. REVISÃO DE LITERATURA	19
3.1 DOR	19
3.2 ANALGESIA EM PEQUENOS RUMINANTES	21
3.3 ANALGÉSICOS OPIOIDES	23
3.4 TRAMADOL	26
4. MATERIAL E MÉTODOS	29
4.1 ANIMAIS	29
4.2 COMPARAÇÃO ENTRE AS DOSES DE 2 e 4 mg.kg ⁻¹ DO TRAMADOL	29
4.2.1 Avaliação física e comportamental	30
4.2.1.1 Frequência cardíaca	30
4.2.1.2 Frequência respiratória	31
4.2.1.3 Pressão arterial sistólica, diastólica e média	31
4.2.1.4 Temperatura retal	31
4.2.1.5 Analgesia	32
4.2.2 Momentos de avaliação	33
4.2.3 Análise estatística	33
4.3 ESTUDO FARMACOCINÉTICO	34
4.3.1 Análise do fármaco	34
4.3.1.1 Equipamentos e acessórios	35
4.3.1.2 Reagentes	36
4.3.1.3 Produtos farmacêuticos	36
4.3.1.4 Condições dos equipamentos e análises	37
4.3.1.5 Preparação das amostras	38
4.3.1.6 Validação do método	38
4.3.1.6.1 Seletividade e linearidade	38

4.3.1.6.2 Precisão, exatidão e recuperação	39
4.3.1.6.3 Estabilidade	40
4.3.1.7 Análises farmacocinéticas e estatísticas	40
5. RESULTADOS	41
5.1 COMPARAÇÃO ENTRE AS DOSES	41
5.2 ESTUDO FARMACOCINÉTICO	52
5.2.1 Validação do método	52
5.2.2 Análise farmacocinética	55
6. DISCUSSÃO	59
6.1 COMPARAÇÃO ENTRE AS DOSES	59
6.1.1 Avaliação física e comportamental	62
6.1.1.1 Frequência cardíaca	63
6.1.1.2 Frequência respiratória	64
6.1.1.3 Pressão arterial sistólica, diastólica e média	65
6.1.1.4 Temperatura retal	66
6.2 ESTUDO FARMACOCINÉTICO	67
6.2.1 Validação do método	67
6.2.2 Análise farmacocinética	68
7. CONCLUSÕES	72
REFERÊNCIAS	73
APENDICE	81

1. INTRODUÇÃO

A exploração de caprinos e ovinos tem elevada importância social para a população rural e para a própria estrutura econômica das regiões onde é desenvolvida (FILHO; KASPRZYKOWSKI, 2006). A caprinocultura aparece como alternativa viável na geração de emprego e renda, já que os caprinos têm grande capacidade de adaptação às condições ambientais adversas e aos diferentes regimes alimentares e de manejo (SIMPLÍCIO, 2013). No Brasil, a criação de pequenos ruminantes vem se consolidando com grande potencial de crescimento e expansão por meio da produção de carne, leite e seus derivados, pele e lã. Durante muito tempo, não existia preocupação para que o crescimento e intensificação da produção fossem feitos de forma racional, preconizando o bem-estar animal. Entretanto, nas últimas décadas, especialistas vem desenvolvendo estudos para identificar alguns procedimentos e etapas da linha produtiva que comprometam a qualidade de vida destes animais, com o intuito de removê-las da linha de produção, contribuindo para reduzir ou abolir a dor do sistema de produção, mantendo o bem-estar (CUNHA, 2011).

Os estímulos que causam dor nas diferentes espécies, de maneira geral, são similares, sendo que a variação ocorre pela forma de manifestação comportamental reativa frente ao estímulo doloroso. A capacidade para quantificar o grau de dor em animais é um componente importante (BARNETT, 1997) e a avaliação objetiva apresenta um verdadeiro desafio para os clínicos e pesquisadores, principalmente no que se diz respeito a ruminantes, os quais, em grande parte dos casos, não demonstram comportamentalmente os sinais de dor e fragilidade, por este motivo, durante muito tempo, o tratamento da dor nesses animais foi negligenciada, não recebendo a mesma atenção que outras espécies (STUBSJØEN et al., 2009).

Devido ao seu comportamento estoico, os animais de produção são os que mais sofrem com a dor, tanto pelo fato de raramente receberem profilaxia ou tratamento analgésico, quanto por serem submetidos a diversos procedimentos cruéis com finalidade de aumentar a produção (LUNA, 2008). Associado a isto, existem outros fatores que limitam o alívio da dor nos pequenos ruminantes, como o custo do tratamento, falta de medicamentos analgésicos licenciados para as

espécies, e escassez de informação científica sobre os efeitos dos fármacos utilizados para o tratamento (SCOTT, 2005).

Tratar a dor, além de ser questão ética e moral, é fundamental, já que ela é capaz promover diversas alterações danosas aos diferentes sistemas orgânicos do animal. O cloridrato de tramadol é um analgésico opioide de ação central, que apresenta duplo mecanismo de ação: interação fraca com os receptores opiáceos μ e inibição na recaptação de noradrenalina e serotonina (HABIBIAN; BIGHAM; AALI, 2011), assim é capaz de bloquear os impulsos na medula espinhal por ação mista, sendo considerado um opioide atípico. É comumente prescrito para o tratamento da dor leve a moderada, mas pode também ser eficaz na dor grave, além disto, apresenta ação analgésica tanto para dor somática quanto para visceral (BLOOR; PAECH; KAYE, 2012).

Apesar do conhecimento de suas benéficas ações nos animais de companhia, a utilização do tramadol nos animais de produção ainda é restrita, já que existem poucos estudos que comprovam seu efeito analgésico e determinam doses com eficácia terapêutica para estas espécies. Pesquisas têm sido realizadas determinando as características farmacocinéticas do tramadol administrado em humanos e cães (KUKANICH; PAPICH, 2004; ELHAKIM et al., 2005), cavalos (DHANJAL et al., 2009) e caprinos (SOUSA et al., 2008). No entanto, o estudo de Sousa et al. (2008) demonstrou que a dose de 2mg.kg^{-1} preconizada por alguns autores é insuficiente para manter níveis plasmáticos que possam promover analgesia quando comparado com resultados em seres humanos, o que sugere que outros trabalhos devem ser realizados para definir uma dose com eficácia terapêutica. Desta forma, pesquisas que correlacionem concentrações plasmáticas do fármaco com alterações comportamentais e a resposta a estímulos nociceptivos em caprinos após a administração de tramadol são necessárias. Além disto, no que diz respeito à espécie, não foi estabelecida uma dose do fármaco que promova analgesia adequada e ausência de efeitos colaterais.

Nesse contexto, objetivou-se com este estudo comparar os efeitos clínicos e adversos, e a farmacocinética do tramadol, nas doses de 2 e 4 mg.kg^{-1} , em caprinos submetidos à orquiectomia.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Comparar os efeitos clínicos, efeitos adversos e farmacocinética do tramadol, nas doses de 2 e 4 mg.kg⁻¹, administrado por via intravenosa em caprinos submetidos à orquiectomia.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar qual a dose intravenosa de tramadol mais eficaz e capaz de promover atividade analgésica em caprinos hípidos;

Monitorar as alterações cardiovasculares e respiratórias em caprinos após administração de tramadol intravenoso;

Verificar as alterações comportamentais e demais efeitos adversos após administração intravenosa do tramadol em caprinos;

Determinar a concentração plasmática, volume de distribuição, depuração, constante de eliminação, constantes de distribuição intercompartimental, tempo de meia-vida plasmática do tramadol após administração intravenosa do medicamento, nas doses de 2 e 4 mg.kg⁻¹, em caprinos.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 DOR

A dor é considerada o quinto sinal vital, devendo ser adequadamente tratada (SHAVIT; FRIDEL; BEIL, 2006). Ela é capaz de produzir uma resposta ao estresse significativo, iniciando a ativação do sistema nervoso simpático, a secreção de glicocorticóides, hipermetabolismo, retenção de sódio e água e alteração no metabolismo de carboidratos e proteínas (ANDERSON; MUIR, 2005).

A Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP - International Association for the Study of Pain) a conceituou em 1986 como uma experiência sensorial e emocional desagradável associada à lesão tissular ou potencial, ou descrita em termos desta lesão. Diante do fato de que os neonatos humanos, pessoas com inabilidade para a comunicação verbal e os animais têm dificuldade da descrição da emoção pela linguagem, considerou-se também que a inabilidade para comunicar-se não descarta a possibilidade de que o indivíduo está sentindo dor e precisa de tratamento adequado para alívio da mesma (HELLYER; ROBERTSON; FAILS, 2013). No caso dos animais, a dor é descrita como uma experiência sensorial de aversão causada por uma lesão real ou potencial que provoca reações motoras e vegetativas de proteção ocasionando uma aprendizagem de um comportamento de esquiva podendo modificar o comportamento específico da espécie, incluindo comportamento social (KITCHELL, 1987).

Existe um grande número de centros, vias nervosas e neurotransmissores nos mecanismos centrais e periféricos envolvidos no processamento da dor. De modo geral, os eventos ligados aos processos dolorosos são distribuídos em quatro fases: transdução, transmissão, modulação e percepção (ANDERSON; MUIR, 2005). A transdução, evento inicial na sequência de todos os outros para a geração da dor, caracteriza-se pela transformação de estímulos ambientais em potencial de ação que, das fibras nervosas periféricas são transferidos para o sistema nervoso

central (SNC). Essa transformação do estímulo mecânico, químico ou térmico, se dá por terminações nervosas livres de fibras mielínicas A-δ e amielínicas C, chamados de nociceptores, encontrados na pele, vísceras, vasos sanguíneos e fibras do músculo esquelético (FANTONI; MASTROCINQUE, 2010). A atividade desses receptores é modulada por várias substâncias químicas algogênicas (acetilcolina, prostaglandinas, histamina, serotonina, bradicinina, leucotrieno, substância P, tromboxana, fator de ativação de plaquetas e íon potássio), presentes nos tecidos e liberadas em decorrência de processos inflamatórios, traumáticos ou isquêmicos. Na presença desses mediadores inflamatórios, diversos nociceptores silenciosos são ativados, principalmente os relacionados as fibras C, em decorrência da redução no seu limiar de ativação, o que contribui para o desenvolvimento de hiperalgesia primária (sensibilidade exacerbada) e alodinia (estímulos normalmente não nocivos passam a ativar os receptores) (HELLYER; ROBERTSON; FAILS, 2013).

O impulso nociceptivo gerado pelos receptores é então transmitido ao longo dos seus axônios até os corpos celulares, localizados no gânglio da raiz dorsal da medula espinhal e em seguida para os seus terminais centrais no corno dorsal. Esta região não é apenas uma estação de coleta de informações, mas possui interneurônios que interferem no processamento das informações sensitivas, inibindo ou facilitando a transmissão dos potenciais veiculados pelos aferentes primários para o SNC. A substância cinzenta da medula espinhal possui lâminas que diferem entre si pelo padrão arquitetônico das suas unidades celulares, sendo essas estruturas responsáveis pela ancoragem dos corpos celulares dos neurônios ascendentes. A transferência das informações nociceptivas da medula espinhal para estruturas encefálicas se dá por meio dos tratos, os quais ligam as lâminas ao tálamo, a formação reticular e hipotálamo. A partir disto, os aspectos físicos da dor são atribuídos às vias aferentes do tálamo que chegam ao córtex cerebral e o córtex sensitivo primário é o responsável por discriminar a localização e a intensidade do estímulo que agora é percebido como dor (ANDERSON; MUIR, 2005; FANTONI; MASTROCINQUE, 2010; HELLYER; ROBERTSON; FAILS, 2013).

A dor é uma experiência complexa e multidimensional e nenhum parâmetro simples mensurado é patognomônico, entretanto, o seu reconhecimento é o primeiro passo para a instituição de terapia adequada. Os indicadores fisiológicos de dor baseiam-se em alterações comportamentais e modificações nas funções vitais como aumento da frequência cardíaca e respiratória além da pressão arterial, decorrente da liberação de catecolaminas, além disto, cita-se elevação nas

concentrações plasmáticas de glicocorticóides, hormônio adrenocorticotrófico e fator liberador de corticotrofina (FITZPATRICK; SCOTT; NOLAN, 2006). Estudos objetivando verificar a eficácia na identificação da dor têm concluído que esta é subjugada, apontando como principais causas para esta situação, a dificuldade no reconhecimento, falta de conhecimentos para uso adequado de fármacos analgésicos e o medo dos seus efeitos secundários (BRAZ et al., 2012). Especialmente nos ruminantes, o reconhecimento da dor torna-se ainda mais difícil, já que apresentam um comportamento estóico, adquirido ao longo dos anos, possibilitando que os animais não demonstrem sinais de dor, escondendo as suas debilidades, a fim de se esquivarem dos predadores (STILWELL, 2005; GOUGOULIS; KYRIAZAKIS; FTHENAKIS, 2010).

Uma vez identificada, a dor deve ser tratada. E para tanto, podem ser utilizados diversas classes de fármacos, escolhidos baseando-se, principalmente, na intensidade e origem da dor além dos efeitos farmacológicos do agente empregado (CUNHA, 2011).

3.3 ANALGESIA EM PEQUENOS RUMINANTES

Ao contrário do que se pensava na prática veterinária de ruminantes, crises de dor são frequentemente encontradas decorrentes de cólicas, doenças gastrointestinais e infecciosas, fraturas e procedimentos cirúrgicos como cesária, descorna e castração. Apesar disto, alguns profissionais relutam em administrar analgésicos e fazem com que esses animais passem pelo procedimento doloroso. Dados publicados recentemente descrevem a castração como o procedimento cirúrgico em que a analgesia é empregada com menor frequência (<34%) (FAJT WAGNER; NORBY, 2011) e levantamento realizado com veterinários canadenses, em que verificou-se a frequência de utilização de analgésicos nos animais de produção, observou-se que os leitões receberam analgesia para castração em menos de 0,001% dos procedimentos, já nos bezerros de corte, esse percentual foi de 6,9% e nos leiteiros, de 18,7% (HEWSON et al., 2007).

Apesar dos ruminantes pouco demonstrarem comportamentalmente os sinais de dor, a maior parte das consequências biológicas e alterações decorrentes dos processos dolorosos são semelhantes em todas as espécies de mamíferos (ANDERSON; MUIR, 2005), sendo evidenciado, de modo geral, estresse intenso, alterações cardiopulmonares bem como neuroendócrinas, metabólicas, imunológica e da termorregulação (JOHNSON et al., 2009). Por este motivo, a identificação rápida e o desenvolvimento de planos de analgesia para a redução e alívio da dor são de extrema importância tanto para garantir a continuidade da produtividade do animal quanto para promover o bem-estar (PLUMMER; SCHLEINING, 2013).

A avaliação da dor em pequenos ruminantes ainda é um desafio, principalmente em ovinos, já que somente sinais sutis de dor são demonstrados (HALL CLARKE; TRIM, 2001). No que diz respeito aos caprinos, a avaliação é mais fácil devido a uma maior sensibilidade e menor tolerância aos processos dolorosos (GALATOS, 2011).

O diagnóstico e avaliação da dor devem ser feitos associando achados objetivos, como alterações nos parâmetros fisiológicos e indicadores de estresse, e fatores subjetivos por meio de avaliação comportamental, de modo que geralmente são evidenciados desvios sutis de comportamento, alteração no apetite, micção, defecação, além de taquipneia, ranger de dentes, imobilidade ou alteração na marcha (HALL; CLARKE; TRIM, 2001; PLUMMER; SCHLEINING, 2013), diminuição dos movimentos e da interação, capacidade de resposta reduzida, alterações posturais, taquicardia, midríase, elevação nas concentrações de cortisol sérico, e aumento de eventos comportamentais, como movimento rápido da cauda e balançar de cabeça (NEWTON; O'CONNOR, 2013).

Após identificação, a dor deve ser prontamente tratada e as estratégias de tratamento para os pequenos ruminantes devem associar eficácia clínica e viabilidade econômica, levando em consideração a intensidade e duração do estímulo doloroso além das características do fármaco, como biotransformação, pico plasmático, vias de eliminação, meia-vida plasmática (NEWTON; O'CONNOR, 2013; PLUMMER; SCHLEINING, 2013).

Apesar do avanço da Medicina Veterinária, na clínica de ruminantes em particular, existem poucos estudos com medicamentos que promovam o alívio da dor e demonstram as concentrações plasmáticas dos fármacos necessárias para promover analgesia nestas espécies. De maneira geral, as doses administradas nesses animais são rotineiramente extrapoladas das prescritas para o homem

ou animais de companhia, e podem não refletir a concentração da droga necessária para analgesia em pequenos ruminantes, já que existem marcantes diferenças fisiológicas entre as espécies (NEWTON; O'CONNOR, 2013; PLUMMER; SCHLEINING, 2013). Deste modo, torna-se fundamental a realização de estudos que comprovem a atividade analgésica e determinem a dose do fármaco nos pequenos ruminantes.

Dentre as drogas e técnicas mais comumente utilizadas nos ruminantes encontram-se os anestésicos locais (lidocaína), os anestésicos epidurais (opióides, inibidores N-metil-D-aspartato e α_2 -agonistas), antiinflamatórios não-esteroidais, analgesia transdérmica, técnica de infusão contínua (CRI) e técnicas complementares como a acupuntura, os fitoterápicos e homeopáticos. Os opióides são analgésicos potentes amplamente utilizados na rotina da clínica, tanto de humanos quanto de animais, sendo requeridos, principalmente, quando outros analgésicos menos potentes não são eficientes, administrados em especial para o tratamento de dor moderada a intensa e dor neuropática (MOORE, 2009).

3.4 ANALGÉSICOS OPIOIDES

Os analgésicos opioides são agentes que vêm sendo utilizados para o tratamento da dor desde as civilizações antigas quando se descobriu os efeitos analgésicos, sedativos e alucinógenos do líquido leitoso extraído da semente da papoula (*Papaverum somniferum*), o ópio, composto por cerca de 20 substâncias farmacologicamente ativas, dentre elas a morfina e codeína. A partir dessa substância natural, diversas foram sintetizadas e genericamente, utiliza-se o termo opioides para designar todos os agentes derivados da purificação do ópio (DUARTE, 2005; LAMONT; MATHEWS, 2013).

Na medicina veterinária, por um bom tempo os opioides foram deixados de lado devido ao receio dos seus efeitos adversos, entretanto, esse medo advém de um trabalho publicado em 1952, que utilizou morfina em gatos na dose 10 vezes maior do que a recomendada, tendo os animais

apresentado quadros excitatórios após administração do fármaco. Atualmente os opioides são amplamente utilizados nos animais domésticos, silvestres e de produção, demonstrando alta versatilidade, segurança e eficiência, aparecendo como elementos-chave para o tratamento efetivo da dor (FANTONI; MASTROCINQUE, 2010; LAMONT; MATHEWS, 2013).

De modo geral os opioides atuam por ligação reversível com receptores específicos no SNC e medula espinhal, alterando a nocicepção e percepção da dor (HELLYER, 1997; LASCELLES, 1999), associado a isto ativam vias nociceptivas descendentes no mesencéfalo e medula, promovendo liberação de serotonina e noradrenalina e alteram os componentes emocionais da dor, por ação no sistema límbico (LAMONT; MATHEWS, 2013).

O efeito de um determinado opioide depende da afinidade que este possui pelo receptor específico e os agentes com afinidade por vários tipos de receptores, apresentam vários efeitos clínicos. Os receptores clinicamente mais relevantes são μ , κ , δ , σ (LAMONT; MATHEWS, 2013).

Os receptores Mu (μ), também chamados OP3 ou MOR (receptores opióides de morfina), são encontrados, principalmente, no tronco cerebral e tálamo medial. A interação do agente opioide com este receptor promove analgesia supraespinal, depressão respiratória, euforia, sedação, diminuição da motilidade gastrointestinal e dependência. Foram descritos dois subtipos deste receptor: MU1 e MU2, tendo o MU1 proporcionado analgesia, euforia e serenidade, enquanto MU2 está relacionado com a depressão respiratória, prurido, liberação de prolactina, dependência, anorexia e sedação. Os receptores Kappa (κ) são distribuídos no sistema límbico, tronco cerebral e medula espinhal. A ligação com este tipo de receptor promove analgesia espinhal, dispneia, sedação, dependência, disforia e depressão respiratória. Outro tipo de receptor é o Delta (δ) (agonista delta-delta-alanina-leucina-encefalina), localizados no cérebro e os seus efeitos não são bem estudados, mas podem estar relacionados aos efeitos psicotomiméticos e disfórico dos opioides. Já os receptores Sigma (σ) (N-agonista allylnormetazocine) são responsáveis por efeitos psicotomiméticos, disforia e depressão induzida pelo estresse. Na realidade, eles não são mais considerados receptores opióides, mas sim locais-alvo para a fenciclidina (PCP) e os seus análogos (TRECOT et al., 2008).

Uma vez que o receptor é ativado, ele libera uma porção da proteína G a qual se difunde no interior da membrana até que atinja o seu alvo (uma enzima ou um canal de íons). Essa interação altera a fosforilação de proteínas através da inibição da AMP cíclico (AMPC), que atua como um

segundo mensageiro no interior da célula, resultando na ativação de quinases de proteína (efeitos de curto a longo prazo) e as proteínas de transcrição do gene e/ou a transcrição do gene (efeitos a longo prazo). Receptores opióides localizados nos terminais pré-sinápticos das fibras C e fibras A- δ , quando ativados por um agonista opióide, irão inibir indiretamente a abertura dos canais de cálcio, por meio da redução no AMPc, o que resultará no bloqueio da liberação de neurotransmissores como o glutamato e a substância P a partir das fibras nociceptivas, resultando na analgesia (McCLEANE; SMITH, 2007). Adicionalmente, alteram a transmissão gabaérgica, permitindo um aumento na concentração de dopamina. Em diferentes graus, os opioides ainda antagonizam os receptores N-methyl-D-aspartato (NMDA), ativando vias nociceptivas descendentes, liberando serotonina e noradrenalina (MELDRUM, 2003).

Os fármacos opioides são classificados de acordo com o tipo de interação com os receptores em: agonista, agonista-antagonista, agonista parcial e antagonista. A maioria dos opioides mais utilizados na rotina da clínica, apresentam interação do tipo agonista com alta afinidade e eficácia nos receptores, são exemplos a morfina, meperidina, tramadol, fentanil, alfentanil, sufentanil, remifentanil. Os fármacos agonistas parciais, como a buprenorfina, têm afinidade elevada, mas baixa eficácia no receptor μ onde produz um efeito parcial após ligação. Os agentes agonistas-antagonistas como a nalbufina e butorfanol, tem atividade agonista em alguns dos receptores e antagonista em outros, tem baixa eficácia no receptor μ , atuando como antagonistas e tendo propriedades agonistas kappa. Os opioides antagonistas, como naloxona, apresentam antagonismo competitivo com todos os receptores opioides, apresentando elevada afinidade para os receptores, entretanto, nenhum efeito analgésico (TRESCOT et al., 2008).

Além da ação analgésica, devido a grande distribuição dos receptores por todo o organismo, em sítios supraespinhais, espinhais e periféricos, diversos efeitos podem ser encontrados, como sedação, euforia, excitação, depressão respiratória, alterações cardiovasculares, do centro termorregulador e efeitos gastrointestinais. Entretanto, o aparecimento de determinado efeito desejado ou adverso dependerá do agente administrado, do quadro do paciente, presença de dor e dose utilizada. De modo geral, os agentes opióides são analgésicos potentes amplamente utilizados na rotina da clínica, de forma segura, sendo requeridos principalmente quando outros analgésicos menos potentes não são eficientes. A escolha de determinado opioide específico dependerá da intensidade da dor, estado do paciente e duração da analgesia desejada, sendo que a avaliação do

paciente deve ser contínua, para adequação do fármaco, dose, via e intervalo de administração (MOORE, 2009).

3.5 TRAMADOL

O cloridrato de tramadol é um fármaco opioide atípico, com ação analgésica decorrente da interação com receptores opióides e não opióides, o que promove ativação central dos mecanismos inibitório da dor (YANARATES et al., 2010). O tramadol (1RS, 2RS)-2[(dimethylamino)-methyl]-1-(3-methoxyphenyl)-cyclohexanol) é estruturalmente semelhante à codeína, sendo formado por dois enantiômeros, que contribuem para os seus efeitos antinociceptivos de formas distintas: agonismo sobre os receptores opióides e interferência nos mecanismos inibidores descendentes da dor (BUDD, 1999; MYERS, 2005; GIORGI et al., 2007).

Age de forma moderada nos receptores opióides μ , apresentando cerca de 25 vezes mais afinidade por este receptor do que para os receptores κ e σ (RAFFA; STONE, 2008). Ele difere dos demais opióides agonistas por promover poucas alterações cardiorrespiratórias, constipação ou sedação (BALLANTYNE, 1998). Além da ação nos receptores opióides, inibe a receptação de monoaminas, principalmente, a noradrenalina e serotonina (YANARATES et al., 2010).

Considerando as diferenças no mecanismo de ação do tramadol, o isômero (+) possui maior afinidade para os receptores μ e inibe preferencialmente a recaptação de serotonina, ao passo que o isômero (-) altera a recaptação de noradrenalina (McMILLIAN et al., 2008). Os isômeros possuem atividade sinérgica e são complementares o que resulta no efeito máximo do tramadol, por este motivo, a forma racêmica é superior em analgesia aos isômeros isolados.

Após administração oral, o fármaco tem uma biodisponibilidade de 65-70% em humanos, devido ao metabolismo de primeira passagem (LINTZ; URAGG, 1985). Sofre metabolização hepática, estando envolvidas nesse processo as enzimas P-450, sendo esta etapa de grande importância já que pesquisas demonstraram que a atividade analgésica está estritamente

relacionada com o sua metabolização, devido ao fato de que os seus diferentes metabolitos têm atividades analgésicas diferentes (GIORGI et al., 2007; GIORGI et al., 2009). Após a administração, o tramadol inalterado e um total de 24 metabolitos, foram isolados na urina de cães e ratos (WU et al., 2001) e 23 metabólitos têm sido encontrados na urina de seres humanos (WU et al., 2001). De todos os produtos da metabolização, o M1, M2 e M5 são os principais e, dentre estes, apenas o metabólito M1 (O-desmethyltramadol) é ativo (HENNIES; FRIDERICH; SCHNEIDER, 1988) e responsável pela atividade analgésica do fármaco, por apresentar afinidade pelo receptor opióide μ 200 vezes maior do que a droga inalterada (DE LEO et al., 2009). O tramadol e seus metabólitos são eliminados primariamente pelos rins (cerca de 90%) e o remanescente, excretado pelas fezes (GROND; SABLITZI, 2004), apresentando duração de ação de aproximadamente 6 horas (BLOOR; PAECH; KAYE, 2012).

As características farmacocinéticas do tramadol vêm sendo estudadas no homem e nas mais diversas espécies animais, como cães (KUKANICH; PAPICH, 2004; ELHAKIM et al., 2005), cavalos (DHANJAL et al., 2009), asininos (GIORGI et al., 2009), alpacas (EDMONDSON, 2011), ratos (MA et al., 2013) e llamas (COX et al., 2010). Em caprinos, Sousa et al. (2008), realizaram um estudo de biodisponibilidade absoluta administrando o fármaco por via intravenosa e oral, entretanto os pesquisadores não realizaram um estudo clínico que pudesse comprovar a eficácia analgésica da dose empregada, de modo que utilizaram a preconizada para outras espécies, sendo observado nos seus resultados concentrações plasmáticas baixas tanto do tramadol quanto do seu metabólito. Quando o fármaco foi administrado por via oral, observou-se concentrações plasmáticas insuficientes para conferir analgesia, quando comparado com concentrações mínimas descritas para o tratamento da dor em humanos, e por via intravenosa, a quantidade de tramadol no plasma manteve-se dentro do descrito como analgésico por pouco tempo, tendo os autores sugerido que outros estudos fossem realizados, administrando pelo menos o dobro da dose utilizada no seu estudo.

O uso clínico deste medicamento em pequenos animais foi descrito em diferentes vias de administração, doses, indicações clínicas e experimentais, produzindo nessas espécies analgesia significativa associada a estabilidade nos parâmetros hemodinâmicos e cardiorrespiratórios (FANTONI; MASTROCINQUE, 2010). Apesar do conhecimento sobre os efeitos analgésicos e a segurança do tramadol, sua utilização em animais de produção ainda é pouco relatada, já que existem poucos estudos que determinam a dose e comprovam a eficácia analgésica do fármaco

nestes animais, bem como que determinem a atividade antinociceptiva do fármaco e a farmacocinética e farmacodinâmica após a administração para o alívio da dor em animais de produção (CUNHA, 2011). Em caprinos, o uso do tramadol é recente e encontra-se principalmente em estudos experimentais, nos quais a droga foi utilizada por via epidural, tendo demonstrado atividade analgésica prolongada e ausência de efeitos colaterais, aparecendo para a espécie como uma alternativa para o tratamento da dor tanto para os casos cirúrgicos quanto para as mais variadas situações clínicas que culminam com o processo doloroso (AJADI et al., 2012; DEHKORDI; BIGHAM-SADEGH; GERAMI, 2012).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ANIMAIS

As condições do estudo foram submetidas e aprovadas pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (CEUA/UFERSA), sob parecer 04/2013 e número do processo 23091.000684/2013-04. Foram utilizados 19 caprinos (*Capra hircus*), adultos, pesando em média 40 kg, machos, sem padrão racial definido, oriundos de propriedades rurais do estado do Rio Grande do Norte, sendo incluídos no estudo somente os animais considerados saudáveis mediante avaliação clínica, incluindo exames complementares de hemograma completo e avaliação bioquímica da função renal (ureia, creatinina) e hepática (AST, GGT e CK) .

Os animais foram desverminados e aclimatados em baias nas quais permaneceram durante a pesquisa, recebendo dieta constituída de capim elefante fresco acrescido de um concentrado industrial, duas vezes por dia, além de sal mineral e água *ad libitum*. Previamente ao dia do experimento, foram submetidos à restrição alimentar e hídrica de vinte e quatro e doze horas respectivamente, sendo a água e a ração fornecidos somente 4 horas após a administração do tratamento.

4.2 COMPARAÇÃO ENTRE AS DOSES DE 2 E 4 mg.kg⁻¹ DO TRAMADOL

O estudo iniciava-se sempre às seis da manhã, para que não houvesse alteração nas avaliações decorrentes do ciclo circadiano.

Para determinação da dose mais eficiente do tramadol, os caprinos foram distribuídos de forma randômica, em um estudo duplo cego, em três grupos experimentais. Em todos os grupos, o medicamento foi diluído em solução de NaCl 0,9% até completar o volume total de 5 mL para que o avaliador não soubesse a dose que estava sendo utilizada. No grupo 2mg, sete caprinos receberam tramadol por via intravenosa, na dose de 2 mg.kg⁻¹, no grupo 4 mg, em sete animais foi aplicado tramadol na dose de 4 mg.kg⁻¹ pela mesma via e no grupo controle, cinco animais receberam 5 mL de NaCl 0,9% também por via intravenosa. Em todos os grupos, passados 50 minutos da administração do tratamento, foi aplicado 7 mg.kg⁻¹ de lidocaína sem vasoconstrictor, no subcutâneo ao longo do cordão espermático e na linha de incisão, na porção distal da bolsa escrotal e, passados 10 minutos, os caprinos foram submetidos a orquiectomia. Salienta-se que os procedimentos cirúrgicos foram realizados seguindo a mesma técnica e material, realizados pelo mesmo cirurgião.

No pós-operatório imediato, os caprinos receberam penicilina, 30.000UI.kg⁻¹, por via intramuscular, sendo administrada novamente com 72 horas.

Os animais foram então avaliados quanto aos efeitos analgésicos do tramadol, bem como as alterações comportamentais e cardiorrespiratórias promovidos pelo fármaco nos caprinos.

4.2.1 Avaliação física e comportamental

4.2.1.1 Frequência cardíaca (FC)

A aferição da frequência cardíaca, registradas em batimentos por minuto, foi realizada pela contagem dos batimentos cardíacos, durante um minuto, com auxílio de estetoscópio BD®.

4.2.1.2 Frequência respiratória (FR)

A aferição da frequência respiratória, registradas em movimentos respiratórios por minuto, foi realizada através da inspeção dos movimentos respiratórios durante um minuto com o animal em repouso.

4.2.1.3 Pressão arterial sistólica (PAS), diastólica (PAD) e média (PAM)

As pressões arterial sistólica, diastólica e média, em mmHg, foram mensuradas pelo método não invasivo, com o auxílio do aparelho petMAP™ *graphic* acoplado a um manguito, de tamanho adequado, posicionado acima da articulação úmero-rádio-ulnar.

4.2.1.4 Temperatura (TR)

A temperatura corpórea foi mensurada, em graus celsius, por via retal com uso de termômetro digital BD®.

4.2.1.5 Analgesia

Objetivando verificar a atividade analgésica do tramadol e determinar o período hábil de analgesia, os animais foram avaliados e atribuídos pontuação de acordo com os parâmetros físicos e a resposta comportamental frente a determinados estímulos (Tabela 01).

A escala de somatório de pontos, modificada de Vettorato; Bacco (2011), apresenta pontuação total máxima de 20 pontos. Quando o somatório foi maior ou igual a 11, dor esteve presente, indicando que o fármaco não mais era capaz de promover analgesia, sendo administrado o resgate, cetoprofeno, na dose de 2 mg.kg⁻¹, por via intravenosa.

Tabela 01 – Escala de somatório de pontos para avaliação da analgesia em caprinos. Mossoró, 2013

Conforto	0 Dormindo, calmo ou ruminando 1 Acordado, interessado com o que ocorre em torno 2 Agitação leve; deprimido e desinteressado com o que ocorre em torno
Quantidade de Movimento	0 Movimento normal 1 Frequentes mudanças de posição ou redução na movimentação 2 Imóvel, indiferente ao ambiente
Aparência ou atitude	0 Normal 1 Alterações leves: pálpebras parcialmente fechadas, olhar fixo 2 Alterações graves: pupilas dilatadas, arqueado, pernas em posição anormal, agitação constante da cauda
Comportamento (sem estímulo)	0 Normal 1 Menos móveis e menos alerta que o normal; desconhecem o que ocorre em volta; muito inquieto 2 Marcadamente anormais: muito inquieto; vocalização, auto-mutilação, cavando pela baia
Resposta ao toque da ferida cirurgica	0 Normal 1 Se afasta quando sítio cirúrgico é tocado; olha

	ferida; movimenta-se pela baia 2 Vocalizar quando ferida é tocada; pouco inquieto; relutante em se mover, mas responde ao ser estimulado 3 Violenta reação ao toque da ferida cirúrgica, vocaliza quando ferida não é tocada; extremamente inquieto, não movimenta-se pela baia
Frequência respiratória	0 - 0 a 15% acima do valor pré-cirúrgico 1 - 16 a 29% acima do valor pré-cirúrgico 2- 30-45% acima do valor pré-cirúrgico 3 - > 45% acima do valor pré-cirúrgico
Pressão arterial média	0 - 0 a 15% acima do valor pré-cirúrgico 1 - 16 a 29% acima do valor pré-cirúrgico 2- 30-45% acima do valor pré-cirúrgico 3 - > 45% acima do valor pré-cirúrgico
Frequência cardíaca	0 - 0 a 15% acima do valor pré-cirúrgico 1 - 16 a 29% acima do valor pré-cirúrgico 2- 30-45% acima do valor pré-cirúrgico 3 - > 45% acima do valor pré-cirúrgico

Modificada de VETTORATO; BACCO (2011)

4.2.2 Momentos de avaliação

Os animais foram avaliados nos momentos 0 (antes da administração do tramadol) e aos que se seguem em 5, 15, 30, 45 minutos e 1, 2, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 16 e 24 horas após a administração do tramadol ou NaCl 0,9%.

4.2.3 Análise estatística

Os dados foram expressos em média $\pm$ desvio padrão avaliados pelos programas estatísticos STATISTICA (StatSoft, inc) versão 8.0 e SigmaPlot for Windows (SigmaPlot; Systat Software Inc) versão 12.0. Após análise da normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk, e homogeneidade de variância por Levene, diferenças estatística dentro e entre grupos experimentais para os momentos (M0 a M15) foi feito por Análise de variância (One Way ANOVA RM) para medidas repetidas e Análise de variância (One Way ANOVA) seguido por Tukey, respectivamente. Similaridades quanto a característica das dosagens utilizou análise de clusters com o método Ward e intervalo de distancia euclidiana. Sempre que necessário utilizou-se da transformação logarítmica para garantir os pressupostos paramétricos. Valores de $P < 0,05$ foram considerados significativos.

4.3 ESTUDO FARMACOCINÉTICO

Para determinação da concentração plasmática de tramadol e as variáveis farmacocinéticas, foram colhidas 3 mL de sangue venoso de todos os animais, a amostra foi acondicionada em tubos contendo EDTA, centrifugada a 2000 G, durante 10 minutos para obtenção do plasma, o qual foi mantido a -80°C , durante dois meses, para posterior análise por meio de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

As coletas de sangue foram feitas nos momentos 0 (antes da administração do tramadol) e aos que se seguem em 5, 15, 30, 45 minutos e 1, 2, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 16 e 24 horas após a administração.

4.3.1 Análise do fármaco

4.3.1.1 Equipamentos e acessórios

- Agitador Vortex QL - 901 BIOMIXER®
- Balança analítica GEHAKA® - AG200;
- Balança de barra tripla - ROHAUS®
- Balões volumétricos - VIDROLABOR® de 25, 50 e 100 mL
- Centrífuga SUPRA® 21K
- Coluna ACE® , 4,6 x 150 mm, 5 µm, C18;
- Cromatógrafo líquido de alta eficiência VARIAN®: bomba quaternária modelo ProStar 240, auto injetor ProStar 410, detector PDA ProStar 335 e sistema de dados (software) Galaxie Chromatography Data System versão 1.9.302.530;
- Máscara de proteção com filtros VO e GA - 3M 6003 - NIOSH®
- Insert para vial (100 µL de capacidade) MANDREL®
- Potenciômetro LABMETER® PHS - 3B;
- Pré-coluna ACE® 5 C18
- Pipetas automáticas de volume variável EPPENDORF® Research
- Pipetas volumétricas VIDROLABOR®
- Ponteiros descartáveis EPPENDORF® - brancas (0,5 - 20 µL), amarelas (2 - 200 µL) e azuis (50 - 1000 µL);
- Seringas descartáveis (1, 3, 5 e 10 mL) - BD®
- Sistema de purificação de água Milli-Q, MILLIPORE®;
- Sistema de filtração a vácuo SARTORIUS GOETTINGEN®

- Tubos descartáveis (0,1 - 1,5 mL) EPPENDORF®
- Ultra-som UNIQUE® 1400;
- Unidade filtrante descartável, 0,45 µm de poro, MILLIPORE®;
- Vials de tampa rosqueada (2 mL de capacidade) - VARIAN®

4.3.1.2 Reagentes

- Acetonitrila para CLAE - (Merck, Darmstadt, Alemanha)
- Tert-Butyl methyl ether (SIGMA)
- Hidróxido de sódio (Merck, Darmstadt, Alemanha)
- Ácido fosfórico a 85% (Merck, Darmstadt, Alemanha)
- Fosfato dissódico (Merck, Darmstadt, Alemanha)

4.3.1.3 Produtos farmacêuticos

- Cloridrato de tramadol (Cristália, São Paulo, Brasil)
- Padrão secundário do tramadol (Sigma, Steinheim, Alemanha)
- Padrão secundário do secnidazol (Effechem SRL, Milão, Itália)

4.3.1.4 Condições dos equipamentos e análise

As concentrações plasmáticas de tramadol foram analisadas por meio de um sistema de HPLC Varian ProStar (Varian, EUA), incluindo uma bomba quaternária (ProStar modelo 240), autoinjeter (ProStar modelo 410), detector de comprimento de onda variável PDA (ProStar modelo 335), um compartimento de duas colunas termostaticado e o sistema de dados (software) Galaxie Chromatography Data System versão 1.9.302.530.

O método de CLAE foi baseado na metodologia previamente publicada para determinação do fármaco em caprinos (SOUZA et al., 2008) com modificações feitas para se adequar as condições dos equipamentos do laboratório, buscando validar um método que proporcione determinação rápida com recuperações elevadas e boa seletividade.

As separações cromatográficas foram feitas utilizando uma coluna ACE C18 (150 mmx4,6 mm, 5 µm, ECA, EUA), acoplada a um guarda-coluna RP ACE (4 mm x 4,6 mm, 5 µm, ECA, EUA) RP-18 com tamanho de partícula de 5 µm (Shimadzu, Columbia, MD, EUA), mantido a temperatura ambiente. A eluição das amostras foi feita através de fluxo isocrático de tampão fosfato 0,015 M e acetonitrila (82:18), ajustado para um pH final de 3 utilizando ácido fosfórico. O fluxo da fase móvel foi de 1,5 ml/min, com volume de injeção de 20 µL. Ajustou-se o detector ultravioleta para operar em um comprimento de onda de 220 nm.

Como padrão interno, utilizou-se uma solução secnidazol 10 µg/mL. A integração da área dos picos e do padrão interno foi realizado no software Galaxie Chromatography Data System versão 1.9.302.530 e os cromatogramas armazenados e reproduzidos pelo mesmo sistema.

4.3.1.5 Preparação das amostras

As amostras congeladas de plasma dos animais foram colocadas para descongelar naturalmente e posteriormente agitadas em vortex antes de sua utilização. Realizou-se uma extração líquido-líquido e, resumidamente, a 500 µL de plasma foram adicionados 50 µL de solução de secnidazol, 100 µL de solução de hidróxido de sódio 0,25 M, agitados em vortex durante 30 s. Então, adicionou-se 3 mL de tert-Butyl methyl ether e foi centrifugado a 2500 G, à 4 °C, durante 10 min, sendo em seguida retirada a fase orgânica a qual foi colocada em banho maria (40°C) e secada com nitrogênio gasoso. Posteriormente, a amostra foi reconstituída com 250 µL da fase móvel, filtradas e injetadas no sistema de CLAE.

4.3.1.6 Validação do método

O método foi validado, baseado nos critérios descritos na resolução da ANVISA nº899, de 29 de maio de 2003.

4.3.1.6.1 Seletividade e linearidade

A seletividade do método foi provada pela ausência de coeluição entre as substâncias endógenas, o tramadol e padrão interno. Amostras de plasma em branco normal e hemolisado não tratados foram utilizados para verificar a especificidade do método.

Para avaliar a linearidade das curvas de calibração, concentrações plasmáticas do tramadol foram calculados a partir de curvas padrão de plasma em banco enriquecida com concentrações conhecidas de tramadol (0.25, 0.5, 1, 2, 3, 10 e 20 µg/mL), analisados em triplicata. As curvas de calibração padrão foram construídas com área sob o pico de tramadol /padrão versus a concentração nominal, por meio de regressão linear.

4.3.1.6.2 Precisão, exatidão e recuperação

Precisão do ensaio foi avaliada através da determinação dos coeficientes de variação (CV) das quatro amostras controle (CQ) (Tramadol - concentrações de 0.25, 3, 10 e 20 µg/mL) com a mesma análise (n = 5, precisão intra-dia) e ao longo de uma série de análises (n = 5, a precisão inter-dia). Tanto a precisão intra-dia e inter-dia foi calculada com a seguinte fórmula:

$$CV\% = \left(\frac{\text{Desvio padrão}}{\text{Média}} \right) \times 100$$

A precisão relativa foi determinada através do cálculo da precisão por cento, pela equação:

$$\text{Acurácia \%} = \left(\frac{\text{Média da concentração mensurada}}{\text{Concentração nominal}} \right) \times 100$$

Determinou-se o limite de quantificação (LLOQ). Os ensaios de recuperação neste estudo foram realizados comparando as áreas dos picos do padrão interno e do tramadol em amostras plasmáticas, extraído segundo o método já descrito. Os compostos de interesse em concentrações

correspondentes a 100% de recuperação foram adicionados de forma semelhante pós-extraída do plasma em branco.

4.3.1.6.3 Estabilidade

A estabilidade do tramadol em plasma caprino foi testada em três ciclos de congelação-descongelação com amostras de plasma branco enriquecido com quatro diferentes concentrações. Estas amostras serão armazenadas congeladas a -20 °C e analisada nos dias 0, 1 e 5.

4.3.1.7 Análises farmacocinéticas e estatísticas

A análise farmacocinética do tramadol foi realizada de acordo com um modelo aberto de dois compartimentos, utilizando o software WinNonlin (Pharsight Co., CA, versão 6.3). A concentração plasmática máxima ($C_{\text{máx}}$) e o tempo para que ela fosse estabelecida ($T_{\text{máx}}$) foram obtidas diretamente da observação dos dados. O volume de distribuição foi calculado, sendo o resultado da divisão da quantidade de tramadol injetado pela concentração plasmática do medicamento. O $t_{1/2}$ foi o valor obtido substituindo a fórmula $0.693/K_e$. O Clearance foi calculado seguindo a fórmula $Cl = k.V_d / t_{1/2}$.

Utilizou-se análise de variância (ANOVA) após transformação dos dados para os seus valores logarítmicos (ln). Usando a variância do erro (S^2), obtidos a partir da análise de variância, os intervalos de confiança de 90% (CI) foram calculados.

5. RESULTADOS

5.1 COMPARAÇÃO ENTRE AS DOSES

Observou-se que a dose de 4 mg.kg⁻¹ promoveu melhor e mais duradoura analgesia quando comparada aos demais grupos estudados. Os animais que receberam a maior dose do opioide demonstraram menores escores de dor associados a menores valores de frequência cardíaca, pressão arterial sistólica, diastólica, média e temperatura quando comparados aqueles nos quais foram administrados 2 mg.kg⁻¹ de tramadol ou NaCl 0,9% (Tabela 02).

Em uma análise multivariada considerando os parâmetros fisiológicos e escore de dor, utilizando um método estatístico de agrupamento (formação de classes ou cluster), no qual os grupos são reunidos de modo que a semelhança entre eles é maior do que qualquer outra classe existente, observou-se que os animais dos grupos controle e 2 mg.kg⁻¹ demonstraram-se semelhantes, evidenciado pela formação de um único cluster para os dois grupos, tendo o grupo 4 mg.kg⁻¹ apresentado diferença dos demais nessas avaliações, o que demonstra o distanciamento deste grupo e evidencia a maior eficácia analgésica do fármaco com esta dose (Gráfico 01).

Tabela 02 – Valores gerais de média $\pm$ desvio padrão dos parâmetros fisiológicos e escore de dor dos caprinos nos diferentes grupos (Controle, 2 e 4 mg.kg⁻¹ de tramadol). Mossoró RN, 2013.

Variável	Controle	2mg	4mg
FC	98,37 $\pm$ 18,0a	100,44 $\pm$ 24,48a	87,16 $\pm$ 5,62 ^a
FR	36,86 $\pm$ 7,91a	33,98 $\pm$ 9,26a	38,30 $\pm$ 7,40 ^a
PAS	140,79 $\pm$ 10,50a	137,91 $\pm$ 17,69a	133,74 $\pm$ 8,25 ^a
PAD	81,70 $\pm$ 9,03a	85,30 $\pm$ 8,10 ^a	69,12 $\pm$ 7,82b

PAM	104,04 ± 9,57 ^a	98,97 ± 8,21ab	90,82 ± 8,14b
TR	39,49 ± 0,31 ^a	39,31 ± 0,42ab	39,05 ± 0,30b
Dor	9,02 ± 1,51 ^a	7,67 ± 2,11ab	6,94 ± 1,21b

^{a,b,c} Letras minúsculas diferentes significa diferença estatística na linha (P<0,05); FC: Frequência cardíaca; FR: Frequência respiratória; PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: Pressão arterial diastólica; PAM: pressão arterial média; Controle: Grupo NaCl 0,9%; 2 mg: Grupo em que foram administrados 2mg.kg⁻¹ de tramadol; 4 mg: Grupo em que foram administrados 4mg.kg⁻¹ de tramadol.

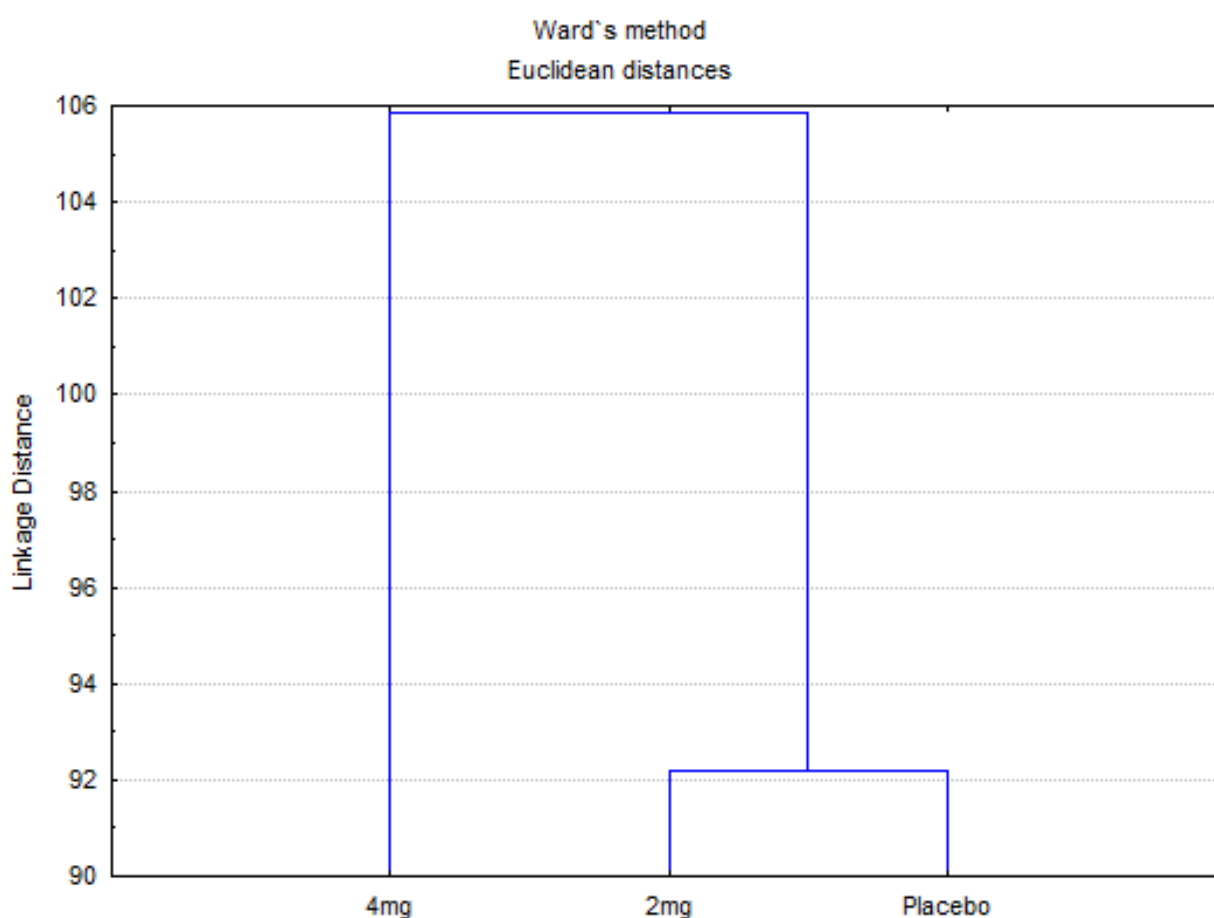


Gráfico 01 – Análise multivariada dos parâmetros, em que são evidenciados a formação de clusters, demonstrando similaridade entre os grupos controle e 2 mg.kg⁻¹ e o distanciamento do grupo 4 mg.kg⁻¹. Mossoró RN, 2013.

Contudo, o tramadol em ambas as doses conferiu analgesia e os animais apresentaram desconforto mais tardiamente do que o grupo controle (Tabela 03). Nos caprinos do grupo controle,

sinais de dor puderam ser evidenciados em apenas duas horas após administração da solução fisiológica, sendo requerido em 3 deles (60% do grupo) aplicação da medicação resgate, enquanto aqueles tratados com tramadol não exibiam ao exame físico assim como na avaliação comportamental, nenhuma característica de desconforto para este momento (Tabela 04).

A aplicação do cetoprofeno foi requerida na maioria (66,6%) dos animais tratados com 2 mg.kg⁻¹ de tramadol, entre seis e dez horas após administração do opioide, enquanto que a maior parte (66,6%) daqueles que receberam a maior dose de tramadol antes da castração, apresentaram dor somente após 16 horas da administração do analgésico (Tabela 03). Ainda quanto a avaliação da analgesia, os menores valores no escore de dor foram observados nos animais que receberam 4 mg.kg⁻¹ de tramadol, seguido dos que receberam a menor dose do fármaco, tendo sido verificado nos caprinos do grupo controle os maiores valores de escore de dor (Tabela 04).

Tabela 03 – Tempo decorrido, em horas, entre a administração do tratamento (NaCl 0,9%, 2 e 4 mg.kg⁻¹ de tramadol) e aplicação do resgate nos diferentes grupos. Mossoró RN, 2013.

Animais	Grupos		
	Controle	2 mg.kg⁻¹	4 mg.kg⁻¹
1	2 h	4 h	6 h
2	2 h	4 h	8 h
3	2 h	6 h	16 h
4	6 h	7 h	16 h
5	8 h	9 h	24 h
6		10 h	24 h
Média±DP	4,0±2,8	6,7±2,5	15±7,6

Considerando os parâmetros fisiológicos avaliados, para a FC, às duas e quatro horas após aplicação do tratamento, os animais do grupo controle demonstraram elevação significativa quando comparado aos do grupo em que administrou-se 4 mg.kg⁻¹ de tramadol. Além disto, diferença estatística entre os grupos foi observada no M8 (seis horas após aplicação intravenosa), em que os animais tratados com 2 mg.kg⁻¹ de tramadol demonstraram frequência cardíaca superior ao dos

demais do estudo e, posteriormente, no M9, aqueles em que administrou-se 4 mg.kg^{-1} do fármaco, foram observados valores inferiores aos outros grupos (Gráfico 02 e Tabela 05).

Dentre os caprinos que receberam a maior dose de tramadol, houve redução significativa no valor médio da FC quatro horas após aplicação do tratamento quando comparado ao momento basal e as 16 e 24 horas após aplicação do opioide. Ainda foram observadas diferença estatística entre os momentos basal e seis horas após injeção do medicamento (Gráfico 02 e Tabela 05).

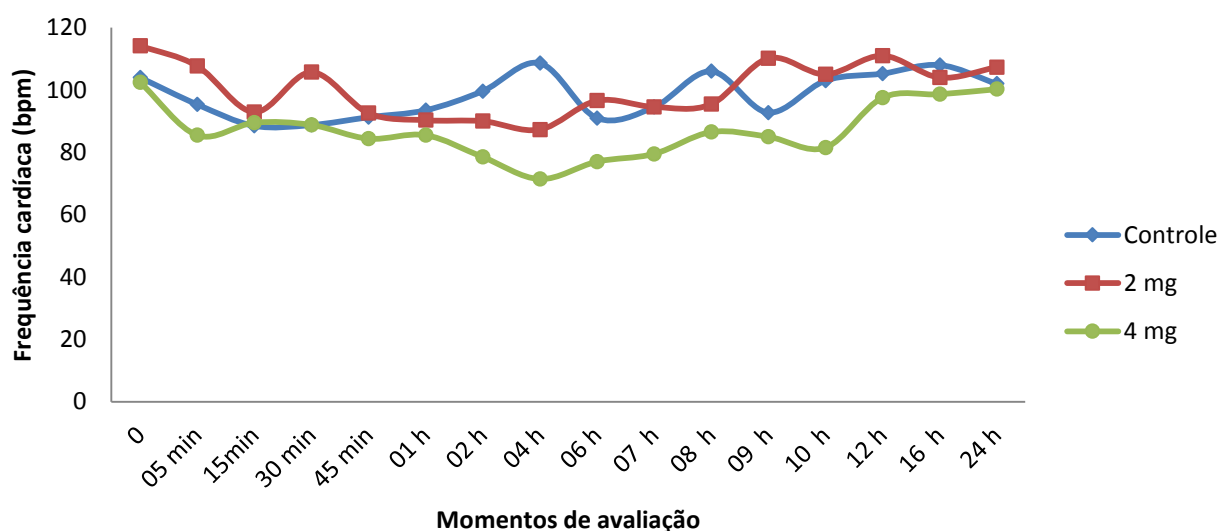


Gráfico 02 – Valores de média $\pm$ desvio padrão da frequência cardíaca dos caprinos nos diferentes momentos em todos os grupos (Controle, 2 e 4 mg.kg^{-1}). Mossoró RN, 2013.

Não houve diferença significativa entre os tratamentos para a frequência respiratória. A dinâmica do número de movimentos respiratórios variou entre os momentos de modo semelhante nos três grupos, tendo sido os maiores valores encontrados entre quatro e nove horas após administração do tramadol ou placebo (Gráfico 03 e Tabela 05).

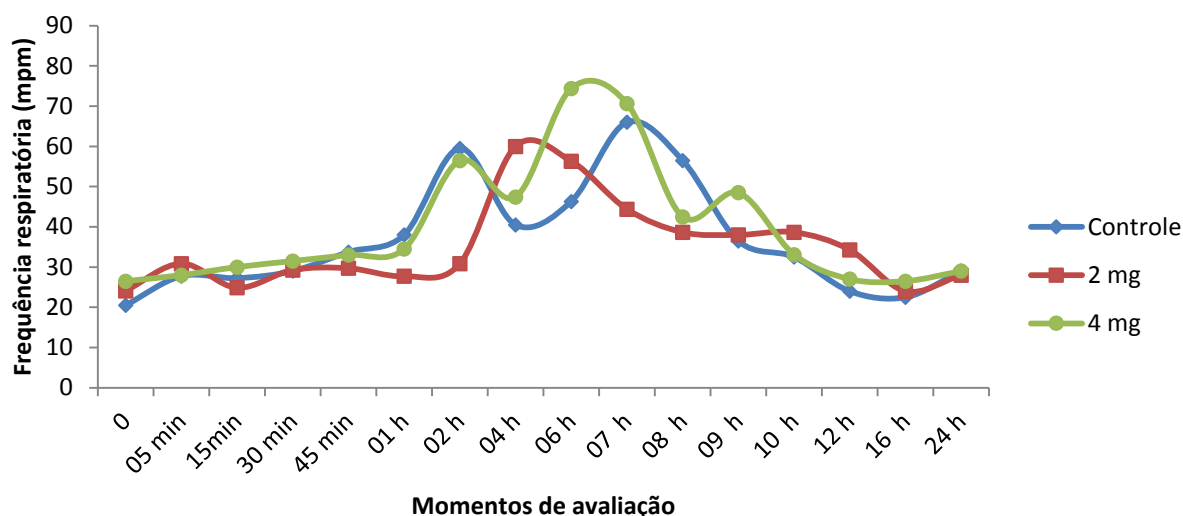


Gráfico 03 – Valores de média $\pm$ desvio padrão da frequência respiratória dos caprinos nos diferentes momentos em todos os grupos (Controle, 2 e 4 mg.kg⁻¹). Mossoró RN, 2013.

O valor de pressão arterial sistólica oito horas após administração de 4mg.kg⁻¹ de tramadol foi significativamente inferior ao dos demais grupos do estudo. Dentre os animais tratados com 2 mg.kg⁻¹ do opioide, redução significativa para o parâmetro foi observada 6 horas após aplicação do fármaco quando comparado aos valores encontrados nos momentos 11 e 15. Além disto, dentre os caprinos que receberam a maior dose de tramadol, o menor valor de PAS foi identificado 9 horas após aplicação do fármaco, diferindo significativamente dos índices evidenciados nos momentos 3, 4, 5 e 8 (30 e 45 minutos, 1 e 6 horas após tramadol) (Gráfico 04 e Tabela 05).

Nos valores de pressão arterial diastólica e média, variação semelhante pôde ser notada, de modo que, em ambos parâmetros ocorreu redução nas médias do grupo 4 mg, a partir de 6 horas após administração do tratamento, demonstrando diferença entre os grupos na PAD as 7, 12 e 16 horas após aplicação do tramadol e na PAM, 9 horas após os tratamentos (Gráfico 05- 06 e Tabela 02).

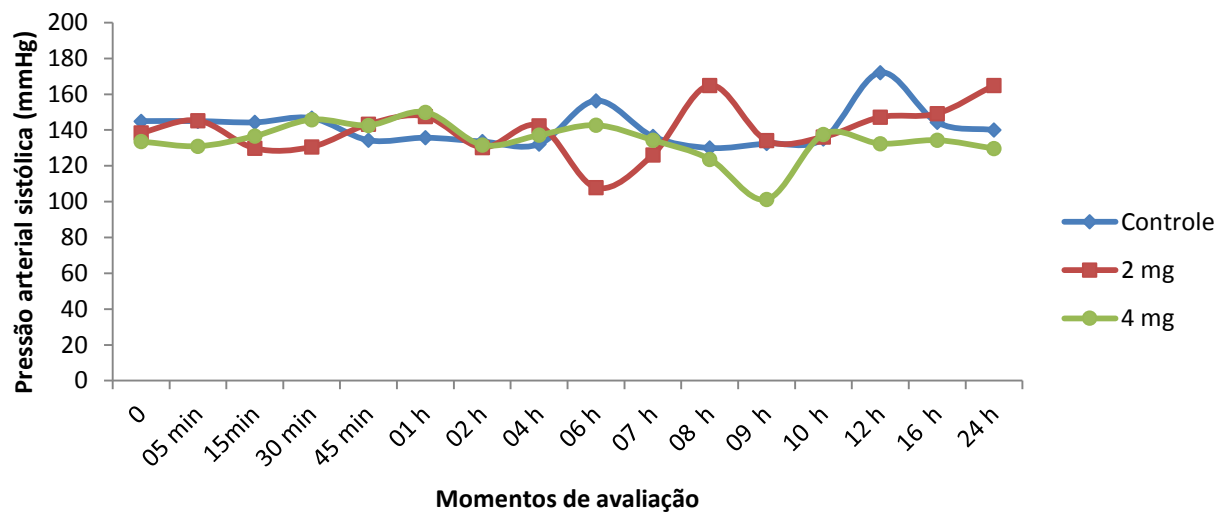


Gráfico 04 – Valores de média $\pm$ desvio padrão da pressão arterial sistólica dos caprinos nos diferentes momentos em todos os grupos (Controle, 2 e 4 mg.kg⁻¹). Mossoró RN, 2013.

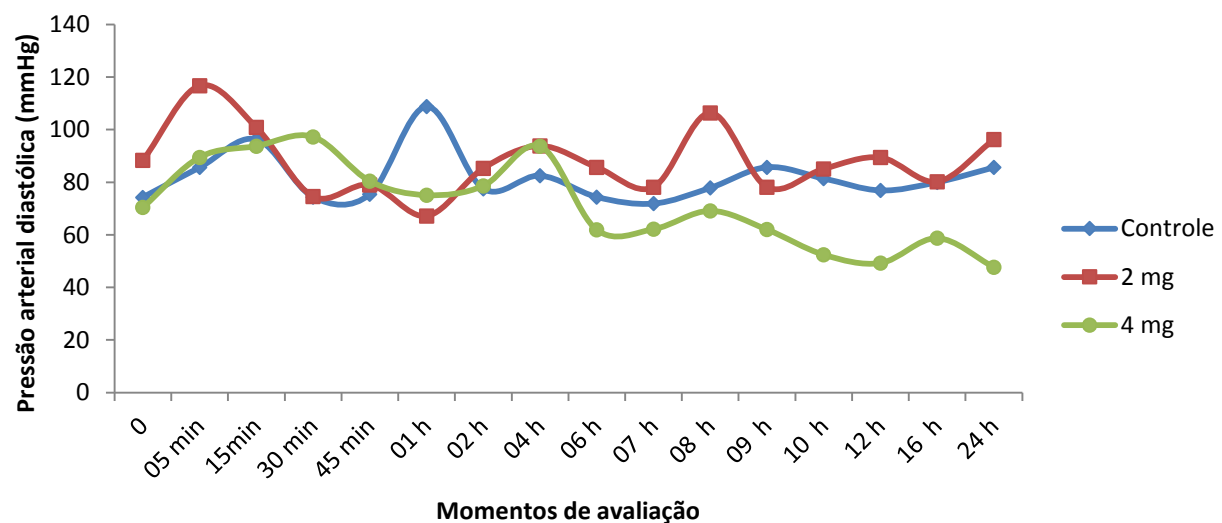


Gráfico 05 – Valores de média $\pm$ desvio padrão da pressão arterial diastólica dos caprinos nos diferentes momentos em todos os grupos (Controle, 2 e 4 mg.kg⁻¹). Mossoró RN, 2013.

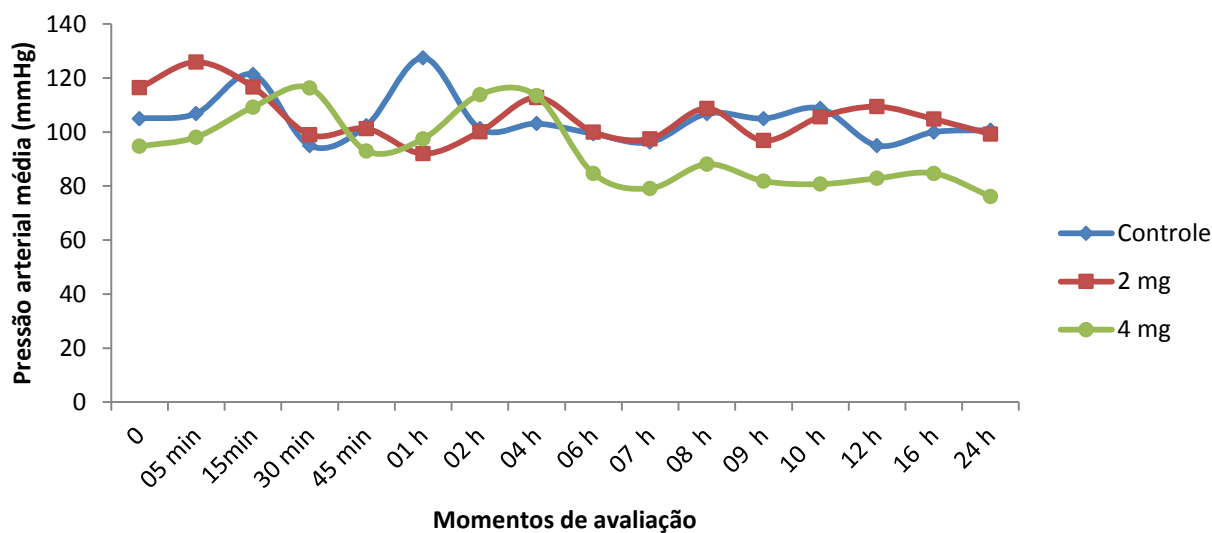


Gráfico 06 – Valores de média $\pm$ desvio padrão da pressão arterial média dos caprinos nos diferentes momentos em todos os grupos (Controle, 2 e 4 mg.kg⁻¹). Mossoró RN, 2013.

Para a temperatura houve diferença estatística entre os grupos as sete e oito horas após aplicação do fármaco ou NaCl 0,9%, tendo os animais tratados com maior dose de tramadol demonstrado os menores valores. Dentre os caprinos do grupo controle e os tratados com a maior dose de tramadol, os maiores valores de temperatura foram observados aos 30, 45 minutos e uma hora após a injeção intravenosa do tratamento, o que diferiu estatisticamente dos valores encontrados imediatamente antes da aplicação do opioide ou NaCl 0,9%. Aqueles que receberam 4 mg.kg⁻¹ de tramadol ainda apresentaram elevação nos valores de temperatura sete e oito horas após aplicação do tramadol quando comparados ao momento basal (Gráfico 07 e Tabela 05).

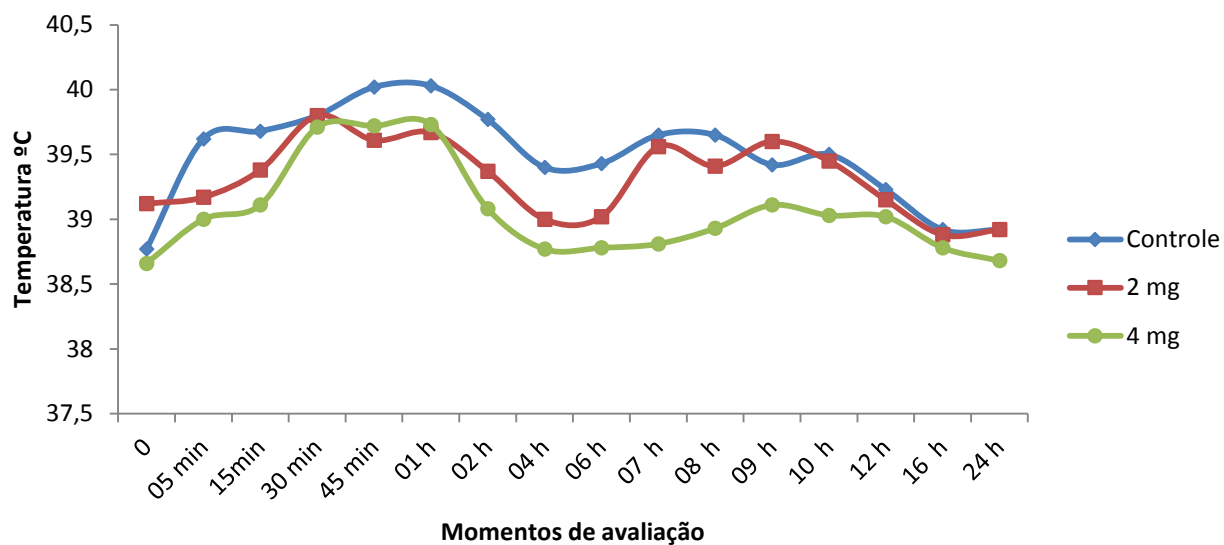


Gráfico 07 – Valores de média $\pm$ desvio padrão da temperatura retal dos caprinos nos diferentes momentos em todos os grupos (Controle, 2 e 4 mg.kg⁻¹). Mossoró RN, 2013.

Tabela 04 – Valores de média $\pm$ desvio padrão do escore de dor de caprinos tratados com NaCl 0,9% (controle), 2 e 4 mg.kg⁻¹ de tramadol em diferentes momentos de avaliação. Mossoró RN, 2013.

	Grupos	M4	M5	M6	M7	M8	M9
Dor	Controle	6Ab	8,0 $\pm$ 2,70Aa	9,62 $\pm$ 4,03Aa	9,12 $\pm$ 1,45Aa	9,75 $\pm$ 1,38Aa	9,87 $\pm$ 2,16Aa
	2 mg.kg⁻¹	0Bc	0Bc	3,83 $\pm$ 4,16Bbc	9,0 $\pm$ 3,16Aa	9,20 $\pm$ 1,78Aa	8,57 $\pm$ 2,22ABa
	4 mg.kg⁻¹	0Bb	0,57 $\pm$ 1,51Bb	2,87 $\pm$ 3,60Bb	7,14 $\pm$ 3,89Aa	9,0 $\pm$ 3,16Aa	7,85 $\pm$ 1,67Ba
Continua							

Tabela 04 – Valores de média $\pm$ desvio padrão do escore de dor de caprinos tratados com NaCl 0,9% (controle), 2 e 4 mg.kg⁻¹ de tramadol em diferentes momentos de avaliação. Mossoró RN, 2013.

Continuação							
	Grupos	M10	M11	M12	M13	M14	M15
Dor	Controle	10,25 $\pm$ 2,49Aa	8,75 $\pm$ 2,37Aa	9,0 $\pm$ 1,85Aa	7,87 $\pm$ 2,10Aa	7,62 $\pm$ 1,92Aa	9,25 $\pm$ 3,53Aa
	2 mg.kg⁻¹	9,66 $\pm$ 1,96Aa	8,33 $\pm$ 1,72Aa	9,20 $\pm$ 3,11Aa	7,60 $\pm$ 1,81Aab	7,83 $\pm$ 2,56Aab	10,20 $\pm$ 3,27Aa
	4 mg.kg⁻¹	8,28 $\pm$ 3,19Aa	8,42 $\pm$ 2,87Aa	7,57 $\pm$ 1,27Aa	7,85 $\pm$ 1,34Aa	8,71 $\pm$ 2,43Aa	10,28 $\pm$ 3,54Aa

^{A,B,C} Letras maiúsculas diferentes significa diferença estatística na coluna (P<0,05); ^{a,b,c,d} Letras minúsculas diferentes significa diferença estatística na linha (P<0,05); Controle: Grupo NaCl 0,9%; 2 mg: Grupo em que foram administrados 2mg.kg⁻¹ de tramadol; 4 mg: Grupo em que foram administrados 4mg.kg⁻¹ de tramadol; M4: 45 minutos após; M5: 1 hora após aplicação intravenosa; M6: 2 horas após; M7: 4 horas depois da aplicação do tratamento; ; M8: momento de avaliação 6 horas após administração do tramadol ou placebo; M9: 7 horas M10: 8 horas após aplicação; M11: 9 horas depois da administração do tratamento; M12: 10 horas; M13: 12 horas; M14: 16 horas e M15: 24 horas após a aplicação do tratamento.

Tabela 05 – Valores de média $\pm$ desvio padrão dos parâmetros fisiológicos de caprinos nos diferentes grupos (Controle, 2 mg.kg⁻¹ e 4 mg.kg⁻¹ de tramadol) nos diferentes momentos. Mossoró RN, 2013.

	Grupos	M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7
FC	Controle	104 $\pm$ 24,09Aa	95,38 $\pm$ 17,56aA	88,5 $\pm$ 19,41aA	88,75 $\pm$ 14,1aA	91,2 $\pm$ 23,03aA	93,5 $\pm$ 14,80aA	99,6 $\pm$ 23,88aA	108,6 $\pm$ 28,08aA
	2mg	114,2 $\pm$ 34,08aA	107,7 $\pm$ 38,2aA	92,9 $\pm$ 28,1aA	105,7 $\pm$ 48,3aA	92,6 $\pm$ 23,60aA	90,3 $\pm$ 22,13aA	90,0 $\pm$ 22,66aAB	87,3 $\pm$ 25,2aAB
	4mg	102,5 $\pm$ 17,8Aa	85,50 $\pm$ 8,5Aabc	89,50 $\pm$ 19,24Aabc _c	88,8 $\pm$ 9,7Aabc	84,38 $\pm$ 7,09 ^a	85,5 $\pm$ 10,5Aabc	78,5 $\pm$ 11,89Babc	71,4 $\pm$ 12,74Bc
FR	Controle	20,5 $\pm$ 4,98Ac	27,7 $\pm$ 7,89Abc	27,2 $\pm$ 6,23Abc	29,0 $\pm$ 17,1Abc	33,75 $\pm$ 23,9Aabc	38,00 $\pm$ 26,4Aabc	59,5 $\pm$ 44,1Aab	40,50 $\pm$ 7,8Aabc
	2mg	24,1 $\pm$ 6,0Ab	30,9 $\pm$ 19,00 Aab	24,86 $\pm$ 9,37Ab	29,29 $\pm$ 15,3Aab	29,71 $\pm$ 14,4Aab	27,7 $\pm$ 9,55Aab	30,86 $\pm$ 12,8Aab	60,0 $\pm$ 44,4Aab
	4mg	26,5 $\pm$ 11,89Ad	28,00 $\pm$ 6,41Ad	30,0 $\pm$ 12,47Acd	31,5 $\pm$ 11,9Acd	33,00 $\pm$ 16,9Acd	34,5 $\pm$ 19,47Acd	56,5 $\pm$ 34Aabc	47,43 $\pm$ 18Aabcd
PAS	Controle	145,0 $\pm$ 20,2Aa	145 $\pm$ 22,54Aa	144,29 $\pm$ 20Aa	146,67 $\pm$ 31,1Aa	134,29 $\pm$ 30,3Aa	135,7 $\pm$ 26,39Aa	133,6 $\pm$ 25,2Aa	132,14 $\pm$ 17,6Aa
	2mg	138,5 $\pm$ 30,8Aab	145,33 $\pm$ 19,7Aab	129,8 $\pm$ 27,5Aab	130,6 $\pm$ 13,7Aab	143,3 $\pm$ 19,8Aab	147,6 $\pm$ 25Aab	130,3 $\pm$ 20,8Aab	142,4 $\pm$ 25,6Aab
	4mg	133,6 $\pm$ 11,2Aab	131 $\pm$ 23,38Aab	136,66 $\pm$ 21,4Aab	145,85 $\pm$ 29,8Aa	142,6 $\pm$ 14,59Aa	150 $\pm$ 26,62Aa	131,7 $\pm$ 11,4Aab	137,16 $\pm$ 24,8Aab
PAD	Controle	74,3 $\pm$ 29,9Aa	85,6 $\pm$ 25,42Aa	96,3 $\pm$ 34,9Aa	74,38 $\pm$ 22,4Aa	75,4 $\pm$ 32,3Aa	108,8 $\pm$ 47,8Aa	77,5 $\pm$ 27,65Aa	82,5 $\pm$ 25,07Aa
	2mg	88,33 $\pm$ 8,7Aab	116,7 $\pm$ 24,58Aa	100,9 $\pm$ 20,1Aab	74,57 $\pm$ 25Aab	79,0 $\pm$ 20,7Aab	67,1 $\pm$ 26,29Ab	85,3 $\pm$ 26Aab	93,8 $\pm$ 39,1Aab
	4mg	70,4 $\pm$ 23,1Aab	89,5 $\pm$ 31,2Aab	93,7 $\pm$ 19,61Aa	97,3 $\pm$ 41,1Aab	80,4 $\pm$ 31,3Aab	75,1 $\pm$ 28,9Aab	78,6 $\pm$ 17,29Aab	93,7 $\pm$ 23,91Aa
PAM	Controle	105,0 $\pm$ 16,5Aa	106,9 $\pm$ 20,86Aa	121,3 $\pm$ 35,2Aa	95,0 $\pm$ 27,26Aa	102,4 $\pm$ 32,5Aa	127,5 $\pm$ 40,9Aa	101,25 $\pm$ 25,0Aa	103,13 $\pm$ 21,2Aa
	2mg	116,4 $\pm$ 32,1Aa	125,9 $\pm$ 30,4Aa	116,7 $\pm$ 32,7Aa	99,0 $\pm$ 32,6Aa	101,29 $\pm$ 17,7Aa	92 $\pm$ 22,73Aa	100,1 $\pm$ 36,1Aa	112,8 $\pm$ 39,9Aa
	4mg	94,7 $\pm$ 17,2Aab	98,13 $\pm$ 22,5Aab	109,25 $\pm$ 23,3Aa	116,3 $\pm$ 34Aab	93,0 $\pm$ 26,1Aab	97,50 $\pm$ 23,3Aab	113,9 $\pm$ 45Aab	113,4 $\pm$ 25,9Aab
TR	Controle	38,77 $\pm$ 0,41Ab	39,62 $\pm$ 0,7Aab	39,68 $\pm$ 0,8Aab	39,80 $\pm$ 0,7Aab	40,02 $\pm$ 0,55Aa	40,03 $\pm$ 0,52Aa	39,77 $\pm$ 0,5Aab	39,40 $\pm$ 0,7Aab
	2mg	39,12 $\pm$ 0,79Aa	39,17 $\pm$ 1,14Aa	39,38 $\pm$ 1,09Aa	39,80 $\pm$ 1,23Aa	39,61 $\pm$ 1,11Aa	39,67 $\pm$ 1,09Aa	39,37 $\pm$ 0,81Aa	39,0 $\pm$ 0,46aA
	4mg	38,66 $\pm$ 0,81Ac	39,0 $\pm$ 0,6Aabc	39,11 $\pm$ 0,6Aabc	39,71 $\pm$ 0,4Aab	39,72 $\pm$ 0,38Aa	39,73 $\pm$ 0,32Aa	39,08 $\pm$ 0,4Aabc	38,77 $\pm$ 0,42Ac

Continua

Tabela 05 – Valores de média $\pm$ desvio padrão dos parâmetros fisiológicos de caprinos nos diferentes grupos (Controle, 2 mg.kg⁻¹ e 4 mg.kg⁻¹ de tramadol) nos diferentes momentos. Mossoró RN, 2013.

									Continuação
	Grupos	M8	M9	M10	M11	M12	M13	M14	M15
FC	Controle	91 $\pm$ 20,48aAB	94,5 $\pm$ 24,8aA	106,0 $\pm$ 22,7aA	92,75 $\pm$ 15,5aA	103 $\pm$ 24,0aA	105,25 $\pm$ 32 aA	108,0 $\pm$ 21,8aA	102 $\pm$ 24,48aA
	2mg	96,6 $\pm$ 25,76aA	94,57 $\pm$ 21,7aA	95,43 $\pm$ 28aA	110,14 $\pm$ 27,1aA	105 $\pm$ 38,75aA	111,0 $\pm$ 36,59aA	104,0 $\pm$ 34,2aA	107,29 $\pm$ 27,7aA
	4mg	77 $\pm$ 10,42Bbc	79,50 $\pm$ 14Babc	86,5 $\pm$ 14,2Aabc	85,0 $\pm$ 9,7Aabc	81,5 $\pm$ 16,5Aabc	97,5 $\pm$ 14,0Aabc	98,63 $\pm$ 10,9Aab	100,2 $\pm$ 22,9Aab
FR	Controle	46,3 $\pm$ 15Aabc	66,0 $\pm$ 34,48Aa	56,5 $\pm$ 35,4Aabc	36,50 $\pm$ 18,2Aabc	32,5 $\pm$ 9,90Aabc	24,0 $\pm$ 8,28Abc	22,50 $\pm$ 6,02Ac	29 $\pm$ 10,4 ^a
	2mg	56,33 $\pm$ 16,12Aa	44,4 $\pm$ 14,17Aab	38,66 $\pm$ 7,86Aab	38,0 $\pm$ 14,4Aab	38,66 $\pm$ 22,4Aab	34,3 $\pm$ 23,19Aab	24,0 $\pm$ 5,65Ab	28 $\pm$ 10,11Aab
	4mg	74,40 $\pm$ 15,13Aa	70,67 $\pm$ 15,5Aab	42,5 $\pm$ 13,2Abcd	48,50 $\pm$ 21Aabcd	33,12 $\pm$ 12,8Acd	27,00 $\pm$ 4,14Ad	26,50 $\pm$ 4,24Ad	29,00 $\pm$ 7,33Acd
PAS	Controle	156,43 $\pm$ 18,9Aa	136,4 $\pm$ 18,67Aa	130 $\pm$ 26,72 Aa	132,5 $\pm$ 12,81Aa	135 $\pm$ 17,32Aa	172,1 $\pm$ 18,64Aa	144,3 $\pm$ 16,07Aa	140 $\pm$ 21,79Aa
	2mg	107,83 $\pm$ 25,6Ab	126,2 $\pm$ 14Aab	165 $\pm$ 30,82Aa	134,2 $\pm$ 25,8Aab	136,2 $\pm$ 19,3Aab	147,2 $\pm$ 32,4Aab	149,25 $\pm$ 27Aab	165 $\pm$ 45,68Aa
	4mg	142,71 $\pm$ 7,27Aa	134,3 $\pm$ 38,9Aab	123,7 $\pm$ 14,3Bab	101,23 $\pm$ 23,8Ab	137,6 $\pm$ 19,6Aab	132,4 $\pm$ 12,8Aab	134,3 $\pm$ 11,2Aab	129,7 $\pm$ 13,5Aab
PAD	Controle	74,38 $\pm$ 18,21Aa	71,8 $\pm$ 8,83Aba	77,85 $\pm$ 22,70Aa	85,71 $\pm$ 22,25Aa	81,42 $\pm$ 20,55Aa	76,87 $\pm$ 15,10Aa	80,0 $\pm$ 17,11Aa	85,62 $\pm$ 43,62Aa
	2mg	85,7 $\pm$ 32,2Aab	78,16 $\pm$ 7,93Aab	106,4 $\pm$ 40,77Aa	78,16 $\pm$ 25,1Aab	85,1 $\pm$ 18,45Aab	89,4 $\pm$ 13,66Aab	80,2 $\pm$ 9,49Aab	96,25 $\pm$ 10,3Aab
	4mg	61,88 $\pm$ 13,9Aab	62,14 $\pm$ 14,8Bab	69,12 $\pm$ 17,3Aab	62 $\pm$ 14,53Aab	52,42 $\pm$ 17,71Ab	49,25 $\pm$ 18,54Bb	58,7 $\pm$ 9,19Bab	47,66 $\pm$ 5,42Ab
PAM	Controle	99,38 $\pm$ 18,79Aa	96,25 $\pm$ 13,56Aa	106,87 $\pm$ 30,1Aa	105,0 $\pm$ 21,38Aa	108,75 $\pm$ 25Aa	95,0 $\pm$ 17,11Aa	100,0 $\pm$ 17,92Aa	100,71 $\pm$ 39,4Aa
	2mg	100,0 $\pm$ 40,0Aa	97,5 $\pm$ 10,83Aa	108,75 $\pm$ 22,5Aa	96,8 $\pm$ 22,1ABa	105,66 $\pm$ 11,6Aa	109,40 $\pm$ 17,2Aa	104,8 $\pm$ 13,70Aa	99,25 $\pm$ 26,87Aa
	4mg	84,6 $\pm$ 15,97Aab	79,16 $\pm$ 9,10Aab	88,12 $\pm$ 13,2Aab	81,85 $\pm$ 10,2Bab	80,71 $\pm$ 18,2Aab	82,85 $\pm$ 19,4Aab	84,71 $\pm$ 9,03Aab	76,16 $\pm$ 8,51Ab
TR	Controle	39,43 $\pm$ 0,61Aab	39,65 $\pm$ 0,43Aab	39,65 $\pm$ 0,44Aab	39,42 $\pm$ 0,87Aab	39,5 $\pm$ 0,55Aab	39,23 $\pm$ 0,35Aab	38,92 $\pm$ 0,57Ab	38,92 $\pm$ 0,50Bb
	2mg	39,02 $\pm$ 0,58Aa	39,56 $\pm$ 0,3Aa	39,4 $\pm$ 0,52ABa	39,6 $\pm$ 0,38Aa	39,45 $\pm$ 0,40Aa	39,15 $\pm$ 0,33Aa	38,88 $\pm$ 0,35Aa	38,92 $\pm$ 0,37Aa
	4mg	38,78 $\pm$ 0,71Ac	38,8 $\pm$ 0,59Bbc	38,9 $\pm$ 0,45Babc	39,1 $\pm$ 0,45Aabc	39,0 $\pm$ 0,37Aabc	39,0 $\pm$ 0,5Aabc	38,8 $\pm$ 0,56Aabc	38,68 $\pm$ 0,36Ac

^{A,B,C} Letras maiúsculas diferentes significa diferença estatística na coluna (P<0,05); ^{a,b} Letras minúsculas diferentes significa diferença estatística na linha (P<0,05); FC: Frequência cardíaca; FR: Frequência respiratória; PAS, PAD e PAM: Pressão arterial sistólica, diastólica e média; Controle: Grupo NaCl 0,9%; 2 mg: Grupo em que foram administrados 2mg.kg⁻¹ de tramadol; 4 mg: Grupo em que foram administrados 4mg.kg⁻¹ de tramadol; M0: Momento basal; M1: 5 min após administração do tratamento; M2: 15 minutos após tratamento; M3: 30 minutos pós aplicação; M4: 45 minutos após; M5: 1 hora após aplicação intravenosa; M6: 2 horas após; M7: 4 horas depois da aplicação; M8: 6 horas após administração do tramadol ou placebo; M9: 7 horas; M10: 8 horas após aplicação; M11: 9 horas depois da administração do tratamento; M12: 10 horas; M13: 12 horas; M14: 16 horas e M15: 24 horas após a aplicação do tratamento.

5.2 ESTUDO FARMACOCINÉTICO

5.2.1 Validação do método

O método utilizado para determinação do tramadol em plasma caprino demonstrou linearidade, observando-se coeficiente de correlação (R^2) de 0,9983 e equação da reta de $y = 0,058x - 0,001$ (Figura 01).

Os ensaios de precisão e exatidão foram realizados em três concentrações: alta (20), média (2) e baixa (0,25) (Tabelas 06 e 07). Os desvios (%) apresentados encontram-se dentro do permitido pela legislação brasileira. As condições experimentais permitiram obter percentual de recuperação de 99,92% e 97,79% para o tramadol e secnidazol.

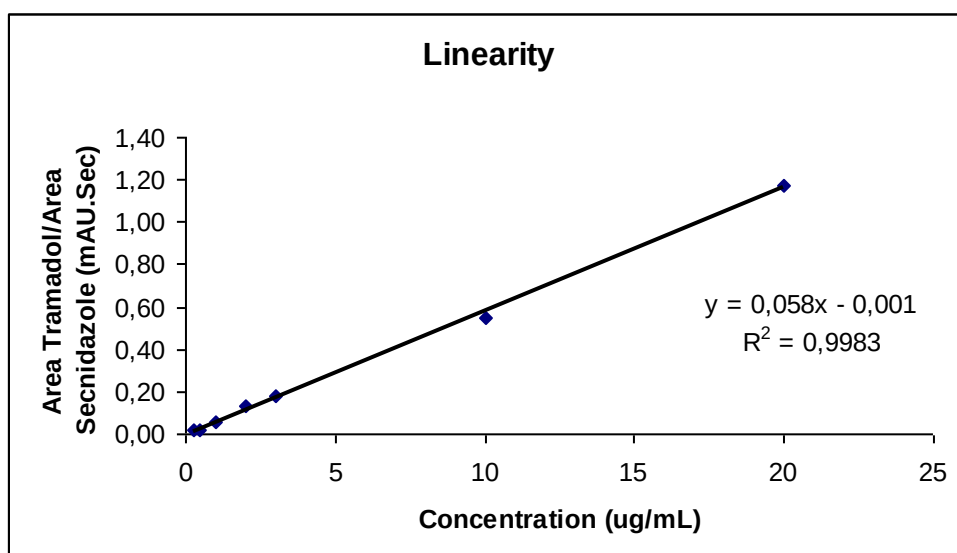


Figura 01 – Representação gráfica da curva padrão de tramadol em plasma caprino, obtido por meio de CLAE. Mossoró RN, 2013.

Tabela 06 – Valores do ensaio de precisão para as concentrações alta (20 µg.ml⁻¹) média (2 µg.ml⁻¹) e baixa (0,25 µg.ml⁻¹) do tramadol obtidos por cromatografia líquida de ala eficiência. Mossoró RN, 2013.

ÁREA TRAMADOL	ÁREA SECNIDAZOL	TRA/SEC	CONC. TRA	CONC. SEC.
1202,1	1160	1,04	20	10
1318,6	1122,7	1,17	20	10
1215,7	1112,2	1,09	20	10
Média	1131,633	1,101281		
Desvio Padrão	25,12097	0,069464		
DPR%	2,219886	6,3076		
110	1019	0,11	2	10
121,5	921,8	0,13	2	10
98,5	948,6	0,10	2	10
Média	963,1333	0,114531		
Desvio Padrão	50,20332	0,015102		
DPR%	5,212499	13,18608		
9,1	587,6	0,02	0,25	10
9,3	458,1	0,02	0,25	10
8,01	454	0,02	0,25	10
Média	499,9	0,01781		
Desvio Padrão	75,97809	0,002412		
DPR%	15,19866	13,54048		

Tabela 07 – Ensaio de exatidão para as concentrações alta (20 µg.ml⁻¹) média (2 µg.ml⁻¹) e baixa (0,25 µg.ml⁻¹) do tramadol obtidos por cromatografia líquida de ala eficiência. Mossoró RN, 2013.

ÁREA TRAMADOL	ÁREA SECNIDAZOL	TRA/SEC	CONC. teórica	Concen. Experimental	% Exatidão
1202,1	1160	1,04	20	17,88436	89,42182
1318,6	1122,7	1,17	20	20,26707	101,3354
1215,7	1112,2	1,09	20	18,86308	94,31541
110	1019	0,11	2	1,878431	93,92153
121,5	921,8	0,13	2	2,289782	114,4891
98,5	948,6	0,10	2	1,807539	90,37693
9,1	587,6	0,02	0,25	0,284254	113,7016
9,3	458,1	0,02	0,25	0,367263	146,9051
8,01	454	0,02	0,25	0,321434	128,5736

Quanto a seletividade, os espectros obtidos em quatro pontos do pico no cromatogramas do tramadol, foram semelhantes (Figura 02). Observou-se pureza de pico de 999,4 quando foi calculado o índice de similaridade do tramadol em plasma e do tramadol existente na biblioteca de padrões, além disto, em uma visão tridimensional, verificou-se absorção do tramadol, sem interferentes (Figura 03). Por meio desta metodologia, o tramadol e o padrão interno, secnidazol, foram eluídos com tempo de retenção de 5 e 2,7 minutos, respectivamente (Figura 04) e o limite de quantificação foi de $0,25\mu\text{g.mL}^{-1}$.

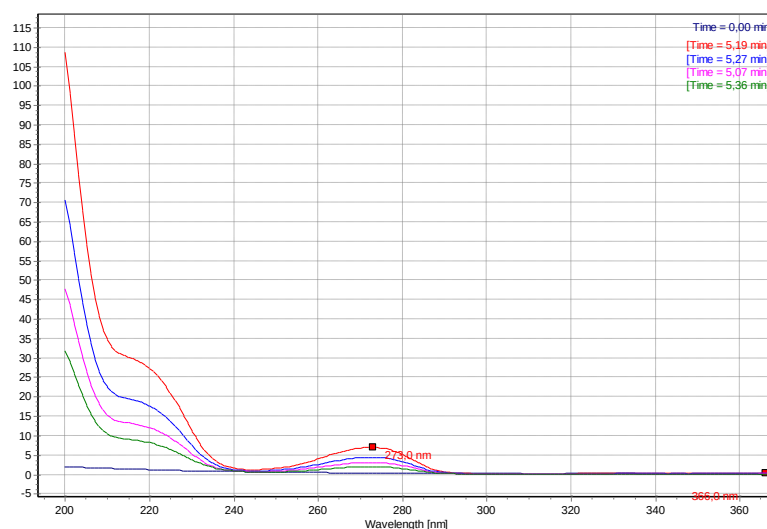


Figura 02 – Espectro do tramadol obtidos em quatro diferentes pontos do pico. Mossoró RN, 2013.

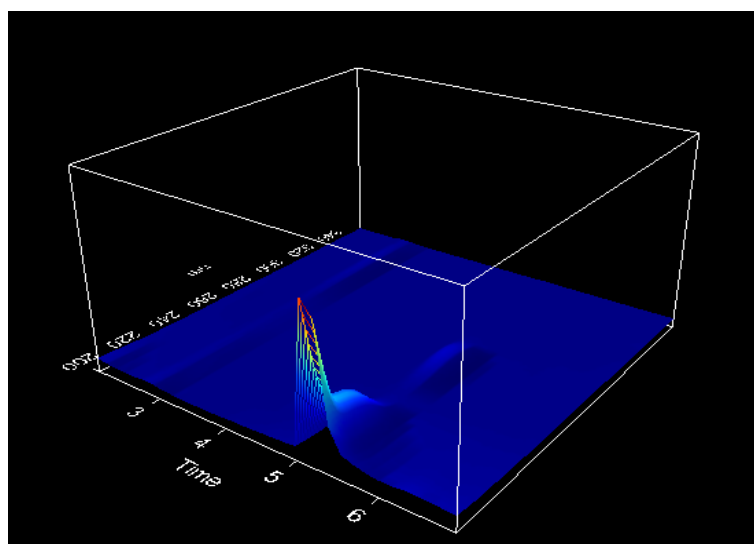


Figura 03 – Visualização tridimensional do espectro do tramadol em plasma caprino, demonstrando não haver interferência dos outros componentes da matriz biológica. Mossoró RN, 2013.

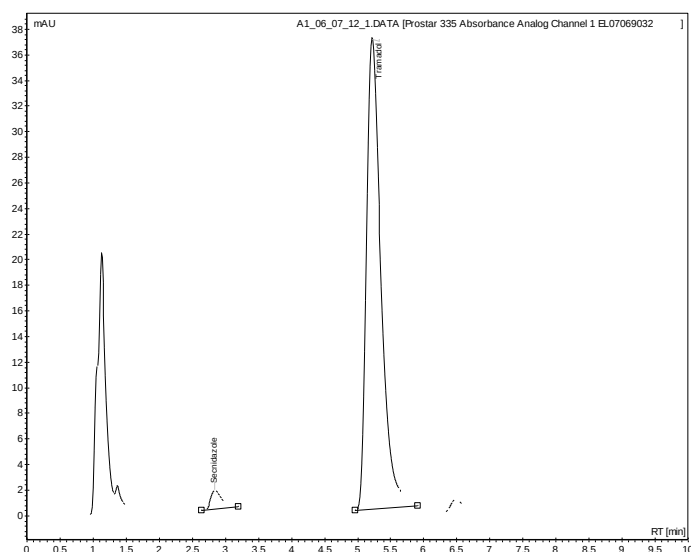


Figura 04 – Cromatograma em que são evidenciados os picos do tramadol e padrão interno, secnidazol, em plasma caprino, obtido por meio de CLAE. Mossoró RN, 2013.

5.2.2 Análise farmacocinética

O modelo aberto de dois compartimentos (Figura 05) foi o que melhor descreveu as concentrações plasmáticas do tramadol em ambas as doses. A distribuição das concentrações do tramadol ao longo do tempo, seguindo o modelo bicompartimental, para as doses de 2 e 4 mg.kg⁻¹ está representado na figura 06.

Os parâmetros farmacocinéticos (média $\pm$ desvio padrão) do tramadol, administrado nas doses de 2 e 4 mg.kg⁻¹ em caprinos, estão apresentados na Tabela 06. Não houve diferença significativa entre os grupos nessas variáveis.

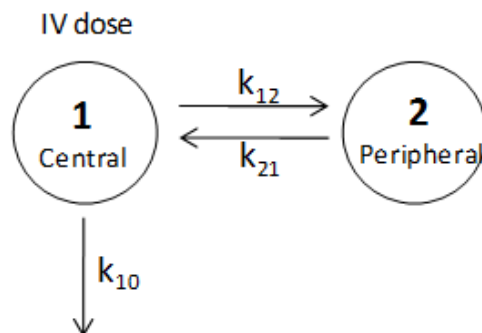


Figura 05 – Representação esquemática do modelo aberto de dois compartimentos empregado para descrever a farmacocinética do tramadol em plasma caprino. Mossoró RN, 2013.

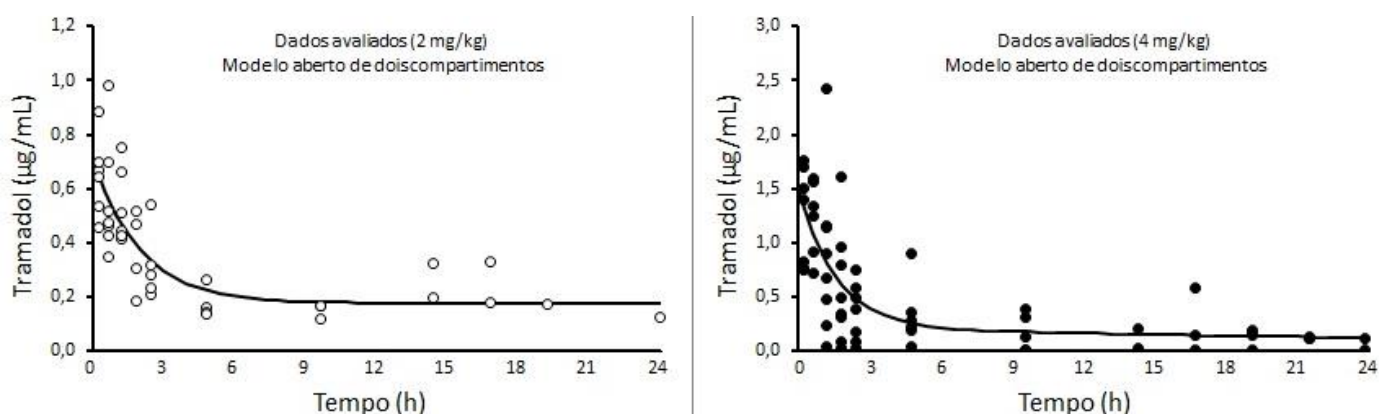


Figura 06 – Distribuição das concentrações do tramadol ao longo do tempo, seguindo o modelo bicompartimental, para as doses de 2 e 4 mg.kg⁻¹. Mossoró RN, 2013.

As mais elevadas concentrações plasmáticas do tramadol ($C_{m\acute{a}x}$) foram 830 ng.ml⁻¹ e 1479 ng.ml⁻¹ para os animais que receberam a menor e maior dose do opioide, respectivamente. Estas concentrações rapidamente decresceram e observou-se tempo de meia vida ($T_{1/2}$) de $0,28 \pm 0,22$ e $0,34 \pm 0,24$ horas para o tramadol nas doses de 2 e 4 mg.kg⁻¹ (Tabela 08). Nos caprinos tratados com 4 mg.kg⁻¹, o tramadol pôde ser identificado por até 24 horas após aplicação e aqueles que receberam 2 mg.kg⁻¹, o fármaco foi detectado por até 10 horas após administração inicial (Gráfico 08).

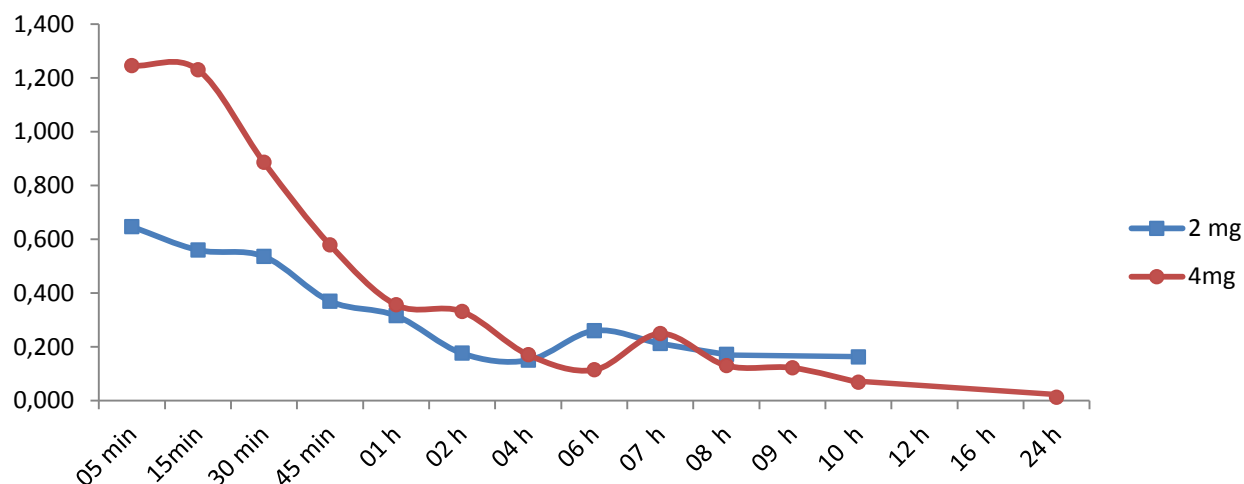


Gráfico 08 – Concentração plasmática do tramadol ao longo das avaliações, nas doses de 2 e 4 mg.kg⁻¹, administrado por via intravenosa em caprinos. Mossoró RN, 2013.

Quanto a extensão da distribuição do medicamento nos tecidos e eliminação, verificou-se que na dose de 2 mg.kg⁻¹, apresentou volume de distribuição (Vd) de $2,65 \pm 0,39$ L/kg, associado a reduzida taxa de depuração (CL $0,18 \pm 0,14$ L/h*kg) e constante de eliminação (K_{10} $0,07 \pm 0,05$ h⁻¹) além de constantes de distribuição intercompartimental K_{12} e K_{21} , de $1,12 \pm 0,25$ e $0,36 \pm 0,09$ h⁻¹, respectivamente.

Já com a dose de 4 mg.kg⁻¹ foram evidenciados maior Vd de $2,88 \pm 0,50$ L/kg, alta taxa de depuração ($1,06 \pm 0,14$ L/h*kg) e K_{10} ($0,15 \pm 0,06$ h⁻¹) e ainda K_{12} e K_{21} de $1,16 \pm 0,28$ e $0,21 \pm 0,06$ h⁻¹ (Tabela 06).

Tabela 08 – Parâmetros farmacocinéticos do tramadol após administração intravenosa em caprinos, nas doses de 2 e 4 mg.kg⁻¹. Dados expressos em média e desvio padrão. Mossoró RN, 2013.

Parâmetro	Dose intravenosa			
	2 mg/kg		4 mg/kg	
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão
$C_{máx}$	0,8305	0,1322	1,4789	0,3235
K_{10} (h ⁻¹)	0,0692	0,0521	0,1539	0,0644
K_{12} (h ⁻¹)	1,1250	0,2555	1,1684	0,2801

K_{21} (h^{-1})	0,3601	0,0865	0,2082	0,0588
Cl(L/h*kg)	0,1778	0,1419	1,0613	0,1419
Vd (L/kg)	2,6533	0,3879	2,8817	0,4972
Vss (L/kg)	11,6799	1,5245	23,0240	1,5245
$T_{1/2}$ (h)	0,28327	0,21686	0,34196	0,23954

$C_{m\acute{a}x}$ – Concentração plasmática máxima; K_{10} , K_{12} – constantes de equilíbrio intercompartimental; K_{21} – constante de eliminação; Cl – Clearance; Vd – Volume de distribuição; Vss – Volume de distribuição no estado de equilíbrio dinâmico; $T_{1/2}$ - tempo de meia vida de eliminação; L – Litro; h – Hora; kg – quilograma.

6 DISCUSSÃO

O tramadol é um opioide de ação central amplamente utilizado em humanos bem como na rotina da clínica de pequenos animais (FANTONI; MASTROCINQUE, 2010). Apesar do conhecimento do efetivo poder analgésico nas espécies domésticas, não há estudos que determinem a dose sistêmica clinicamente eficaz para a prevenção e tratamento da dor nos caprinos, e os efeitos clínicos e comportamentais resultantes da administração do tramadol para a espécie, sendo esta pesquisa pioneira nestes aspectos.

6.1 COMPARAÇÃO ENTRE AS DOSES

O tramadol administrado por via intravenosa, na dose de 4 mg.kg^{-1} conferiu adequada analgesia pós-operatória nos caprinos submetidos à orquiectomia. Os animais tratados com esta dose apresentaram um maior alívio da dor e mais duradouro, além de reduzidos escores de dor associados a menores valores de frequência cardíaca e pressão arterial, sobretudo quando comparado com o grupo controle. Dose semelhante foi comprovada clinicamente eficaz em cães (PAOLOZZI et al., 2011) após aplicação do opioide por via intravenosa, e em gatos (PYPENDOP; SIAO; ILKIW, 2009).

Apesar dos caprinos tratados com 2 mg.kg^{-1} de tramadol terem demonstrado sinais de dor mais tardiamente do que o grupo controle, em uma análise multivariada considerando todos os parâmetros avaliados, houve semelhança entre os dois grupos. Baseado nisto, nas condições deste estudo, a menor dose de tramadol administrada não foi capaz de conferir adequada analgesia, não sendo, portanto, a recomendada para utilização na prevenção e tratamento da dor nos caprinos.

A ineficiência desta dose também foi sugerida por Sousa et al. (2008), ao avaliar a biodisponibilidade do tramadol por via intravenosa e oral em caprinos. Os autores verificaram que, após aplicação única de 2 mg.kg^{-1} do fármaco, baixas concentrações plasmáticas da droga inalterada e seu metabólito puderam ser identificadas. Além disto, considerando os resultados de estudos realizados em humanos, nos quais identificaram concentrações plasmáticas mínimas, do tramadol e o metabólito, necessárias para que analgesia clínica fosse evidenciada, nos caprinos estas permaneciam por curto período de tempo. Corroborando ainda com os resultados do estudo em tela, Dhanjal et al. (2009) ao avaliar os efeitos clínicos, propriedades antinociceptiva e farmacocinética do tramadol intravenoso em cavalos, evidenciaram que nenhum efeito antinociceptivo foi notado após administração do opioide na dose de 2 mg.kg^{-1} .

Observou-se, portanto, que a eficácia analgésica demonstrou um padrão dose-dependente, em que o incremento na dose do opioide resultou em aumento na analgesia, confirmando os achados anteriormente descritos em bovinos, gatos e ratos (BANIADAM; AFSHAR; AHMADIAN, 2010; PYPENDOP; SIAO; ILKIW, 2009; KIMURA; OBATA; SAITO, 2012).

Estudo realizado em felinos, em que o tramadol foi administrado em doses crescentes de 0,5 a 4 mg.kg^{-1} , e os animais avaliados quanto ao limiar térmico, verificou resultado semelhante ao observado nesta pesquisa para os caprinos, em que o aumento da dose resultou em incremento na analgesia (PYPENDOP; SIAO; ILKIW, 2009). Corroborando ainda com estes achados, em ratos ao administrar diferentes doses intraperitoneal (10, 20 e 40 mg.kg^{-1}) e intratecal (125, 250 e $500 \mu\text{g}$), os autores concluíram que o incremento da dose resultava em aumento na atividade analgésica e efeito antihiperálgico (KIMURA; OBATA; SAITO, 2012).

Quanto ao período hábil do tramadol, a elevação na dose também resultou em aumento no tempo de analgesia, de modo que as doses de 2 e 4 mg.kg^{-1} do opioide nos caprinos, resultaram em analgesia clínica por $6,7 \pm 2,5$ e $14 \pm 8,2$ horas, respectivamente. Observação semelhante foi descrita em gatos, nos quais a resposta a estimulação térmica foi avaliada, sendo verificada a mesma relação entre a dose e o tempo de analgesia, em que os animais tratados 2 mg.kg^{-1} , elevados limiares térmicos foram identificados por 6 a 13 horas após a administração do opioide, 3 mg.kg^{-1} promoveu analgesia durante 9 a 12 horas e 4 mg.kg^{-1} resultou em altos limiares entre 10 a 16 horas após a administração do tramadol (KIMURA; OBATA; SAITO, 2012).

Em bovinos, após aplicação epidural de doses crescentes do tramadol, foi constatado dinâmica semelhante a observado nos caprinos, de forma que o aumento da dose resultou em aumento no período hábil, sendo verificado para estes animais ausência de resposta ao estímulo na região perianal durante 18, 60 e 92 minutos, para as doses de 1, 2 ou 3 mg.kg⁻¹, respectivamente (BANIADAM; AFSHAR; AHMADIAN, 2010). Em cadelas submetidas à ovariossalpingohisterectomia, analgesia pós-operatória foi satisfatória por 8 horas após aplicação intravenosa de 2 mg.kg⁻¹ de tramadol (MASTROCINQUE; FANTONI, 2003), semelhante ao observado nos caprinos.

No tocante do grupo controle, a maior parte dos animais necessitou de medicação resgate em apenas duas horas após aplicação do tratamento (NaCl 0,9%). Atribui-se esse tempo de analgesia a lidocaína infiltrada localmente no cordão espermático e na linha de incisão, já que a necessidade do resgate ocorreu há aproximadamente uma hora após a lidocaína e culminava com o fim do período hábil de analgesia promovida pelo anestésico local (SKARDA; TRANQUILLI, 2013).

Apesar da dificuldade em avaliar a dor nos ruminantes ser bem descrita, principalmente em decorrência de seu comportamento estoico, em que somente sinais sutis de desconforto são evidenciados (HALL; CLARKE; TRIM, 2001; GALATOS, 2011), a escala de somatório de pontos utilizada no estudo (Adaptada de VETTORATO; BACCO, 2011) aliou análise subjetiva comportamental, com achados objetivos do exame físico, como aumento nas frequências cardíaca, respiratória e pressão arterial, o que possibilitou uma acurada avaliação e determinação do escore de dor apresentado pelos caprinos. Firth e Haldane (1999) ao desenvolver uma escala de avaliação da dor pós-operatória em animais, concluiu que medidas comportamentais e fisiológicas podem ser usadas com segurança para avaliar o grau de dor no pós-operatório bem como para avaliar ação dos analgésicos.

Neste estudo, realizou-se um ensaio clínico randomizado, duplo-cego, e para determinar o efeito analgésico do tramadol nos caprinos, utilizou-se como estímulo doloroso, a orquiectomia. Optou-se por este estímulo por representar de forma específica a dor, tendo os animais sido submetidos a uma situação clínica-cirúrgica em que o emprego e a eficiência do analgésico fazia-se necessário.

Alguns estudos experimentais utilizam outros meios para representar estímulos dolorosos, como transdutores térmicos (calor) (DHANJAL et al., 2009), estímulos elétricos, químicos (cristais

de urato) ou mecânicos (VARCOE-COCKS et al., 2006). Entretanto, estes métodos são limitados, uma vez que não promovem resposta específica decorrente de dor. No caso dos transdutores térmicos, por exemplo, a resposta do animal pode ser provocada por mudanças de temperatura e não a dor; durante a estimulação mecânica, a resposta decorre da pressão do dispositivo antes da ativação das vias da dor; na estimulação elétrica, de espasmos musculares independentemente do processo doloroso, e a estimulação química produz inflamação além da dor (LE BARS; GOZARIU; CADDEN, 2001). Desta forma, resultados obtidos de estudos que utilizam estas metodologias devem ser avaliados com cautela, uma vez que os resultados obtidos não representam de forma fidedigna os encontrados quando um estímulo específico que causa dor é aplicado.

Optou-se pela utilização do anti-inflamatório não esteroidal (AINE), cetoprofeno como medicação resgate pelo conhecido poder analgésico que o fármaco apresenta (MATSUDA, 2002). Este AINE é o mais potente e seguro dentre o grupo do ácido propiônico e apresenta mecanismo de ação baseado na inibição das cicloxigenases 1 e 2, o que promove bloqueio das respostas inflamatórias vasculares e celulares (TASAKA, 2002). Esta inibição não seletiva das enzimas COX é responsável por seus efeitos adversos, como sangramento excessivo e danos gastrointestinais (NARITA et al., 2006). Este medicamento mostrou-se seguro para utilização em bovinos, sendo recomendado para aplicação a cada 24 horas (LANDONI; CUNNINGHAM; LESS, 1995; DEGRAVES; RIDDELL; SCHUMACHER, 1996; BARBOSA JÚNIOR, 2010).

6.1.1 Avaliação física e comportamental

A administração do tramadol nos caprinos, tanto na dose de 2 quanto de 4 mg.kg⁻¹, não resultou em efeitos adversos como salivação intensa, tremor muscular ou alterações deletérias nas funções cardiovasculares e respiratórias. Ainda, não evidenciou-se constipação, timpanismo ou qualquer outra alteração gastrointestinal.

Desta forma, o fármaco mostrou-se seguro, confirmando os resultados anteriormente relatados para caprinos (SOUSA et al., 2008), cães (MASTROCINQUE; FANTONI, 2003; VETTORATO et al., 2010; PAOLOZZI et al. 2011), asininos (GIORGI et al., 2009) e cavalos (DHANJAL et al., 2009).

Para melhor compreensão do efeito do tramadol nas variáveis fisiológicas, os parâmetros do exame físico foram organizados em blocos e discutidos separadamente.

6.1.1.1 Frequência cardíaca

Os valores obtidos para a frequência cardíaca em todos os grupos estiveram dentro do intervalo considerado fisiológico para a espécie, descrito por Detweiler (1996) e Feitosa (2008).

De modo geral, o tramadol proporcionou manutenção nos valores de frequência cardíaca quando administrado nas doses de 2 e 4 mg.kg⁻¹. Houve certa uniformidade dos valores ao longo dos momentos de avaliação, estando sempre próximos aos encontrados no momento basal. Esta capacidade do tramadol em promover mínimos efeitos sobre o sistema cardiovascular em humanos é bem conhecida (LEWIS; HAN, 1997), e este representa um dos motivos pelo qual o fármaco ganha destaque dentre os opioides e é cada vez mais recomendado especialmente para pacientes de risco. Em animais, a segurança e estabilidade da frequência cardíaca após aplicação do tramadol foi anteriormente descrita nos cavalos (DHANJAL et al., 2009; KNYCH et al., 2013) e cães (MASTROCINQUE; FANTONI, 2003; VETTORATO et al., 2010; PAOLOZZI et al., 2011).

No presente estudo, elevação e diferença significativa na frequência cardíaca entre os grupos somente foi observada as duas, quatro e seis horas após aplicação dos tratamentos. Nestes momentos, o aumento no valor do parâmetro nos grupos controle e 2 mg, ocorreu a medida em que evidenciou-se aumento no escore de dor.

Às duas e quatro horas após aplicação do NaCl 0,9% no grupo controle, aumento na FC foi evidenciado bem como os maiores escores de dor foram identificados, sendo requerido aplicação de medicação resgate na maior parte do grupo entre esses momentos. De forma semelhante, nos animais que receberam 2 mg.kg⁻¹ de tramadol, a aplicação do cetoprofeno foi realizada em média as 6 horas após administração do tratamento, que culminou com o momento em que os maiores valores de FC foram observados no grupo.

Baseado nisto, nas condições deste estudo, a frequência cardíaca provou ser útil e bem associada ao grau de dor apresentado pelo animal. A elevação no valor da FC frente à dor provou ser decorre da sistema nervoso autônomo e liberação de catecolaminas tanto em estudos com animais quanto em humanos (HAMPF, 1990; LEWIS; WHIPPLE; MICHAEL, 1994; SATO et al., 1976), por este motivo, a frequência cardíaca e as alterações no ritmo cardíaco têm sido usados como medições alternativas para indicar a presença e avaliar o alívio da dor (TOUSIGNANT-LAFAMME; RAINVILLE; MARCHAND, 2005).

6.1.1.2 Frequência respiratória

Na frequência respiratória (*f*), ao contrário do que ocorre após administração de outros opioides agonistas μ , como a morfina, a utilização do tramadol em caprinos não resultou em depressão respiratória. Para o parâmetro, não houve diferença significativa entre os grupos. Afirmação de Lintz et al. (1998), aponta para a fraca interação com o receptor opioide μ , como sendo o responsável pela ausência de depressão respiratória decorrente da administração do tramadol.

A estabilidade respiratória observada neste estudo após administração do tramadol nos caprinos, também foi evidenciada desde as primeiras pesquisas realizadas com opioide em animais, em que altas doses do fármaco não promoveu depressão respiratória em coelhos conscientes e cães anestesiados (OSTERLOH et al., 1978).

Manutenção do status respiratório ainda foi descrito em humanos (LEWIS; HAN, 1997), cães (MASTROCINQUE; FANTONI, 2003; VETTORATO et al., 2010; PAOLOZZI et al., 2011) e cavalos (DHANJAL et al., 2009; KNYCH et al., 2013), sendo esse efeito importante e bastante considerado durante a escolha da terapia analgésica nessas espécies.

Na presente pesquisa, a frequência respiratória variou ao longo do dia de modo semelhante entre os grupos, e os maiores valores foram encontrados entre as quatro e sete horas após a administração do tratamento, que culminava com os horários mais quentes do dia.

Segundo Muller; Botha e Smith (1993) a temperatura ambiente é a principal responsável por alterações na temperatura retal e *f*. Em regiões de elevadas temperaturas, como é o caso do semi-árido potiguar, o estresse desencadeado pela combinação de fatores climáticos, faz com que os animais na tentativa de manterem a homeotermia, aumentam a dissipação de calor pela termólise evaporativa, através da sudorese e da respiração, o que eleva substancialmente o número de movimentos respiratórios dos animais (SILVA, 2000).

Excetuando-se os horários de pico (4 a 7 horas após tratamento), os valores de frequência respiratória obtidos neste estudo para caprinos, estão próximos aos descritos como fisiológicos para a espécie, de 20 a 48 mpm (FEITOSA, 2008).

6.1.1.3 Pressão arterial sistólica, diastólica e média

De modo geral, nos valores pressóricos observou-se certa uniformidade dentro de cada grupo durante os momentos de avaliação. As médias obtidas ao longo das avaliações não diferiram dos obtidos no momento basal, e estreita faixa de variação foi observada, o que denota o mínimo efeito do tramadol na variável.

A segurança e ausência de efeitos deletérios nas funções cardiovasculares do tramadol são conhecidos desde muito tempo. Em estudos clássicos, o fármaco proporcionou manutenção e estabilidade da pressão arterial e demais parâmetros cardiovasculares em cães e gatos, nas doses de até 10 mg.kg⁻¹ (OSTERLOH et al. 1978; VOGEL et al., 1978). Trabalhos publicados mais recentemente em que a droga foi administrada nas doses de 1, 2 e 4 mg.kg⁻¹ em cães, resultado semelhante ao observado no presente estudo para caprinos foi descrito, em que poucas alterações nas pressões foram evidenciadas (MASTROCINQUE; FANTONI, 2003; VETTORATO et al., 2010; PAOLOZZI et al., 2011).

Os valores obtidos nas pressões do grupo controle foram semelhantes aos descritos como fisiológico para ovinos por Detweiler (1996), para PAS, PAD e PAM de 140, 90, 114 mmHg, respectivamente. Os valores pressóricos encontrados nos animais tratados com o opioide estiveram próximos aos descritos por Dzikiti et al. (2011) para caprinos e Avoine et al. (2011) para ovinos.

Ainda com relação a pressão arterial, neste estudo optou-se pela mensuração por meio do método não invasivo. Este apresenta grande vantagem por ser menos cruento, podendo ser utilizados tanto na cirurgia como na clínica diária e tem uma correlação muito próxima com o método invasivo (FEITOSA, 2008). O aparelho utilizado para mensuração das pressões (petMAP™ *graphic*), acoplado a manqueto de tamanho adequado, demonstrou facilidade, praticidade e rapidez durante as avaliações.

6.1.1.4 Temperatura retal

No que concerne à temperatura retal (TR), em todos os grupos, os caprinos apresentaram-se normotérmicos, com TR dentro do intervalo considerado fisiológico para a espécie, de 38,6 a 40 °C (FEITOSA, 2008).

O tramadol, nas doses de 2 e 4 mg.kg⁻¹ nos caprinos não promoveu aumento ou redução significativa na temperatura. O parâmetro apresentou variação semelhante entre os grupos ao longo das avaliações, demonstrando picos a partir dos 5 minutos após aplicação dos tratamentos até as 2 horas e posteriormente reduzindo a valores mais próximos aos basais. Para estas elevações atribui-se maior influência ambiental do que o tratamento, já que a variação ocorreu em todos os grupos nos mesmos momentos.

Manutenção da temperatura retal após aplicação do tramadol foi anteriormente relatada em cães, nos quais o fármaco foi administrado nas doses de 1, 2 e 4 mg.kg⁻¹ e, assim como observado neste estudo para caprinos, temperatura variou em uma estreita faixa, não tendo o tramadol influenciado para mudança do parâmetro (PAOLOZZI et al., 2011).

6.2 ESTUDO FARMACOCINÉTICO

O presente estudo confirma e amplia o conhecimento atual da cinética do tramadol, e demonstra os parâmetros farmacocinéticos do opioide administrado em caprinos na dose comprovada clinicamente eficaz. Além disto, ao aliar farmacocinética e farmacodinâmica, esta pesquisa revela importantes informações a cerca do medicamento, o que confere maior segurança durante a escolha da droga, dose e intervalo de administração.

6.2.1 Validação do método

O método utilizado para determinação e quantificação do tramadol em plasma caprino por meio de cromatografia líquida de alta eficiência, baseado no anteriormente publicado por Sousa et al. (2008), demonstrou facilidade, rapidez nas análises e quantificações acuradas.

Durante a validação da metodologia, a análise de 7 concentrações distintas para avaliação da linearidade demonstrou coeficiente de correlação de 0,9979, adequado para determinação do opioide na matriz biológica, conforme especificações da norma brasileira (BRASIL, 2003).

No que concerne a precisão e exatidão, o ensaio apresentou resultados dentro das especificações preconizadas pela ANVISA, a qual regulamenta que o desvio padrão relativo para precisão deve ser menor ou igual a cinco e para exatidão, os valores devem estar entre 80 e 120%. Quanto a seletividade, não observou-se coeluição ou presença de qualquer interferente durante a identificação dos analitos.

Deste modo, o método empregado demonstrou linearidade, especificidade, precisão e exatidão de acordo com a resolução da ANVISA nº 899 de 23 de maio de 2003.

6.2.2 Análise farmacocinética

As concentrações plasmáticas do tramadol ao longo do tempo foram melhor descritas por meio de um modelo de dois compartimentos. Para determinação deste modelo como sendo o que melhor adequava-se ao tramadol, realizou-se análise por meio do software de avaliação farmacocinética (WinNolin 6.3), com o método de Gauss-Newton, comparando o modelo de um e dois compartimentos. A partir dos resultados do critério de bondade e ajuste de Akaike, ficou definido que o de dois compartimentos melhor representava o comportamento das concentrações do tramadol ao longo do tempo.

Neste modelo, assume-se que o tramadol é administrado diretamente no compartimento central, representado pelos órgãos de maior perfusão e, de acordo com suas propriedades físico-químicas, há distribuição para o compartimento periférico (órgãos de menor perfusão). Ao atingir o equilíbrio e considerando o seu clearance, segue um decaimento, sendo a droga, após distribuição, eliminada via compartimento central (FERNANDES; ISMAEL, 2006).

O modelo farmacocinético bicompartimental utilizado neste estudo, também foi anteriormente descrito para representar a cinética do tramadol no organismo de caprinos (SOUSA et al., 2008), cães (KUKANICH; PAPICH, 2004; McMILLIAN et al., 2008), cavalos (DHANJAL et al., 2009) gatos (PYPENDOP; ILKIW, 2008) e camelos (ELGHAZALI et al., 2008).

Conforme esperado, o aumento na dose resultou em elevação na concentração plasmática, de modo que nos caprinos tratados com 2 e 4 mg.kg⁻¹, foram obtidos C_{máx} de 830 ng.ml⁻¹ e 1479 ng.ml⁻¹, respectivamente. Além disto, o tramadol foi detectável no plasma dos animais por 10 e 24 horas após aplicação da menor e maior dose do opioide. Constatação semelhante foi anteriormente descrita para cães e cavalos, os quais foram submetidos a administração de doses crescentes do tramadol, e os autores observaram que o incremento na concentração plasmática e no tempo de identificação do medicamento no plasma, ocorria a medida em que aumentava-se a dose do fármaco (McMILLIAN et al., 2008; KNYCH et al., 2013).

Na medicina veterinária, apesar da grande utilização do tramadol na terapia analgésica principalmente de animais domésticos, não há estudos que determinem a concentração mínima eficaz (CME) do opioide necessária para que analgesia clínica seja promovida. Em humanos, as pesquisas relatam ampla variabilidade entre os pacientes na concentração mínima eficaz, atribuído variação na metabolização do tramadol pelo citocromo P450 (STAMER et al., 2003). Apesar deste fato, admite-se que eficácia analgésica é observada enquanto são obtidas concentrações plasmáticas de no mínimo 100 ng.ml⁻¹ do tramadol (MALONNE et al., 2004). Na nossa pesquisa, após aplicação do tramadol, a CME de 100 ng.ml⁻¹ foi atingida durante 9 e 10 horas nos animais tratados com 4 e 2 mg.kg⁻¹ do opioide. Todavia, comprovadamente obtivemos analgesia clínica nos animais tratados com 4 mg.kg⁻¹ durante 14±8,2 horas, momento em que a concentração plasmática do tramadol apresentava-se inferior a 100 ng.ml⁻¹.

Atenta-se para o fato de que altas concentrações do grupo 4 mg quando comparado ao 2 mg, foram evidenciadas até 1 hora após aplicação do tramadol. A partir deste momento, as

concentrações em ambos grupos equiparam-se, sendo identificado valores semelhantes, o que sugere que com a maior dose, inicialmente ocorre intensificação na difusão pelas membranas e metabolização da droga, obedecendo os princípios da termodinâmica e as leis de Frick.

De acordo com estas leis, a velocidade de difusão é diretamente proporcional ao gradiente de concentração, desta forma, quão maior for a concentração da substância, maior a velocidade de difusão, e ainda, segundo as leis, a partir do início do processo de difusão e do transporte da substância, o gradiente de concentração se torna menos abrupto e portanto, o movimento se torna menor, fato também observado na dinâmica das concentrações plasmáticas do tramadol neste estudo.

A constatação do rápido decaimento na concentração plasmática do tramadol após sua aplicação na dose de 4 mg.kg^{-1} e possivelmente, extensiva metabolização é de grande importância, já que pesquisas indicaram que a maior parte da analgesia promovida pelo opioide advém do metabólito ativo (GIORGI et al., 2007; GIORGI et al., 2009). Após ação das enzimas P450 no fígado, diversos metabólitos foram identificados e apenas o metabólito M1 (O-desmethyltramadol) é ativo (HENNIES; FRIDERICH; SCHNEIDER, 1988) e responsável pela atividade analgésica do fármaco, por apresentar 2 a 4 vezes a potência analgésica e 200 vezes maior afinidade pelo receptor opióide μ do que a droga inalterada (DE LEO et al., 2009).

Desta forma, neste estudo, apesar das concentrações plasmáticas e variáveis farmacocinéticas não diferirem entre os grupos ao longo das avaliações, acreditamos que a superioridade analgésica de 4 mg.kg^{-1} tramadol quando comparado a menor dose, tanto na qualidade quanto no tempo de analgesia, é decorrente da formação de maiores quantidades do metabólito ativo, O-Desmethyltramadol. Para o total esclarecimento, os dados cinéticos deste metabólito seriam necessários, e admitimos que esta é a limitação do estudo.

Quanto aos demais parâmetros farmacocinéticos, verificou-se curto tempo de meia vida, de $0,28 \pm 0,2$ e $0,34 \pm 0,2$ horas para 2 e 4 mg, respectivamente, assemelhando-se ao anteriormente descrito para a espécie, em que após administração intravenosa de 2 mg.kg^{-1} do opioide, meia vida de $0,31 \pm 0,01$ horas (SOUSA et al., 2008).

O tramadol, em ambas doses demonstrou alto volume de distribuição (V_d 2,65 e 2,88 L/kg, para as doses de 2 e 4 mg.kg^{-1}), o que denota ampla afinidade e distribuição pelos tecidos.

Corroboram com este resultado, os dados obtidos para Vd do tramadol em caprinos (SOUSA et al., 2008), cavalos (DHANJAL et al., 2009; KNYCH et al., 2013), humanos (LEWIS; HAN, 1996), e cães (KUKANICH; PAPICH, 2004).

7 CONCLUSÕES

O tramadol, administrado por via intravenosa, promove atividade analgésica adequada para caprinos submetidos a orquictomia. Na dose de 4 mg.kg^{-1} , o alívio da dor foi intenso e prolongado, sendo esta a dose recomendada para o tratamento da dor pós-operatória na espécie.

A administração do opioide em ambas as doses, não resultou em efeitos adversos ou alterações deletérias nas funções cardiovascular, respiratória e gastrointestinal. Aparecendo a droga como alternativa segura e eficaz para terapias analgésicas nos caprinos.

O método utilizado para determinação do tramadol em plasma caprino por meio de cromatografia líquida de alta eficiência, demonstrou facilidade e rapidez nas análises, sendo capaz de adequadamente identificar e quantificar os analitos no plasma animal, o que pode contribuir de modo substancial para estudos posteriores envolvendo o medicamento e a matriz biológica.

Apesar de não haver diferença significativa entre os grupos nos parâmetros farmacocinéticos, acredita-se que a superioridade analgésica clinicamente comprovada, da maior dose de tramadol, advém da extensiva metabolização do opioide e consequente formação de maiores quantidades do metabólito ativo.

REFERÊNCIAS

- AJADI, R. A. et al. Effect of epidural tramadol and lignocaine on physiological and behavioural changes in goats subjected to castration with a high tension band. **New Zealand Veterinary Association**, v. 60, n.6, p. 344-348, 2012.
- ANDERSON, D. E.; MUIR, W. W. Pain Management in Ruminants. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 21, n.1, p. 19–31, 2005.
- AVOINE, O. et al. Total liquid ventilation efficacy in an ovine model of severe meconium aspiration syndrome. **Critical Care Medicine**, v. 39, n. 5, p. 1097-1103, 2011.
- BALLANTYNE, J. Tramadol: Its role in acute pain management. **Acute Pain, Amsterdam**, v. 1, n. 2, p. 5-6, 1998.
- BANIADAM, A.; AFSHAR, F. S.; AHMADIAN F. Analgesic effects of tramadol hydrochloride administered via caudal epidural injection in healthy adult cattle. **American journal of veterinary research**, v. 71, n. 7, p. 720-725, 2010.
- BARBOSA JÚNIOR, G. F. **Avaliação da analgesia com cetoprofeno e meloxicam em bovinos submetidos a descorna**. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária). 2010. Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró RN.
- BARNETT, J. L. Measuring pain in animals. **Australian Veterinary Journal**, v. 75, p. 878–881, 1997.
- BLOOR, M.; PAECH, M. J.; KAYE, R. Tramadol in pregnancy and lactation. **International Journal of Obstetric Anesthesia**, v. 21, p. 163–167, 2012.
- BRASIL. Resolução RE N° 899, de 29 de maio de 2003. **Guia de validação de métodos analíticos e bioanalíticos**. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/4983b0004745975da005f43fbc4c6735/RE_899_2003_Determina+a+publica%C3%A7%C3%A3o+do+Guia+para+valida%C3%A7%C3%A3o+de+m%C3%A9todos+anal%C3%A9ticos+e+bioanal%C3%A9ticos.pdf?MOD=AJPERES> Acesso em 13 de novembro de 2013.
- BRAZ, M. et al. Effect of rectal or intravenous tramadol on the incidence of pain-related behaviour after disbudding calves with caustic paste. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 136, p. 20–25, 2012.
- BUDD, K. The role of Tramadol in acute pain management. **Acute Pain**, v. 2, n. 4, p. 189-196, 2009.

COX, S. Pharmacokinetics of intravenous and intramuscular tramadol in llamas. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 34, p. 259-264, 2010.

CUNHA, F. G. A. **Anestesia em pequenos ruminantes – Revisão de literatura**. 2011. 48f. Monografia (Conclusão de curso Medicina Veterinária) - Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária. Brasília – DF, 2011.

DE LEO, M. et al. Evaluation of tramadol and its main metabolites in horse plasma by high-performance liquid chromatography/fluorescence and liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry techniques. **Rapid Commun Mass Spectrom**, v. 23, n.2, p. 228-236, 2009.

DEGANI, A. L. G.; CASS, Q. B.; VIEIRA, P. C. Cromatografia: Um breve ensaio. **Química nova na escola**, n. 7, 1998.

DEGRAVES FJ; RIDDELL MG; SCHUMACHER J. Ketoprofen concentration in plasma and milk after intravenous administration in dairy cattle. **American journal of veterinary research**, v. 57, n. 7, p 1031-1033, 1996.

DEHKORDI, S.H.; BIGHAM-SADEGH, A.; GERAMI, R. Evaluation of anti-nociceptive effect of epidural tramadol, tramadol-lidocaine and lidocaine in goats. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 39, n. 1, p.106-10, 2012.

DETWEILER, D. R. **Mecanismos de controle do sistema circulatório**. In: SWENDSON, M. J.; REECE, W. O. Fisiologia dos animais domésticos. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p. 171-208.

DHANJAL, J. K. et al. Intravenous tramadol: effects, nociceptive properties, and pharmacokinetics in horses. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 36, p. 581–590, 2009.

DUARTE, D. F. Uma Breve História do Ópio e dos Opióides. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 55, n. 1, p. 135-146, 2005.

DZIKITI, B. T. et al. Effects of propofol on isoflurane minimum alveolar concentration and cardiovascular function in mechanically ventilated goats. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 38, n. 1, p. 44–53, 2011.

EDMONDSON, M. A. et al. Pharmacokinetics of tramadol and its major metabolites in alpacas following intravenous and oral administration. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 35, p. 389–396, 2011.

ELHAKIM, M. et al. Analgesic and antacid properties of i.m. tramadol given before Caesarian section under general anesthesia. **British Journal of Anaesthesia**, v. 95, p. 811–815, 2005.

FAJT, V. R.; WAGNER, S. A.; NORBY, B. Analgesic drug administration and attitudes about analgesia in cattle among bovine practitioners in the United States. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 238, p. 755–767, 2011.

FANTONI, D.T.; MASTROCINQUE, S. **Fisiopatologia e controle da dor aguda**. In: FANTONI, D.T.; CORTOPASSI, S.R.G. Anestesia em cães e gatos. 2 ed. São Paulo: Roca, 2010. p. 519-542.

FEITOSA, F. L. F. **Exame físico geral ou de rotina**. In: _____. Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico. 2. ed. São Paulo: Editora Roca, 2008. p. 65-86.

FERNANDES, F.; ISMAIL, P. C. **Conceitos farmacocinéticos fundamentais**. In: CANGIANI, L. M.; POSSO, I. P.; POTÉRIO, G. M. B.; NOGUEIRA, C. S. Tratado de anestesiologia SAESP. Vol 1. 6 ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2006. p 207-218.

FILHO, A. N.; KASPRZYKOWSKI, J. W. A. **O agronegócio da caprino-ovinocultura no nordeste brasileiro**. Série Documentos do ETENE, n 09. Fortaleza CE: Banco do Nordeste, 2006, p. 56.

FIRTH, A.M.; HALDANE, S.L. Development of a scale to evaluate postoperative pain in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 214, n. 5, p. 651-659, 1999.

FITZPATRICK, J.; SCOTT, M.; NOLAM, M. Assessment of pain and welfare in sheep. **Small ruminant research**. v. 62, p. 55-61, 2006.

GALATOS, A. D. Anesthesia and analgesia in sheep and goats. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 27, n. 1, p. 47-59, 2011.

GIORGI, M, et al. Pharmacokinetics of Tramadol and Its Metabolites M1, M2, and M5 in Donkeys after Intravenous and Oral Immediate Release Single-Dose Administration. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 29, n.7, p. 569-574, 2009.

GIORGI, M. et al. Pharmacokinetic evaluation of Tramadol and its major metabolites after single oral sustained tablet administration in the dog: a pilot study. **The Veterinary Journal**, v. 180, p. 253-255, 2009.

GIORGI, M. et al. Pharmacokinetics of Tramadol and its Metabolites M1, M2 and M5 in horses Following Intravenous, Immediate Release (Fasted/Fed) and Sustained Release Single Dose administration. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 27, p. 481-488, 2007.

GIORGI, M. et al. Pharmacokinetics of Tramadol and Its Metabolites M1, M2, and M5 in Donkeys after Intravenous and Oral Immediate Release Single-Dose Administration. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 29, n. 7, p. 569–574, 2009.

GLEN, I. Pharmacokinetic analysis. **Anaesthesia & intensive care medicine**, v. 6, n. 8, p. 280-282, 2005.

GOUGOULIS, D. A.; KYRIAZAKIS, I.; FTHENAKIS, G. C. Diagnostic significance of behavior changes of sheep: A selected review. **Small Ruminant Research**, v. 92, n. 1–3, p. 52–56, 2010.

GROND, S.; SABLITZKI, A. Clinical pharmacology of tramadol. **Clinical pharmacokinetics**, v.43, n.13, p. 879-923, 2004.

HABIBIAN, S.; BIGHAM, A. S.; AALI, E. Comparison of lidocaine, tramadol and lidocaine-tramadol for epidural analgesia in lambs. **Research in Veterinary Science**, v. 91, p. 434–438, 2011.

HALL, L.W.; CLARKE, K.W.; TRIM, C.M. **Anaesthesia of sheep, goats and other herbivores**. In: Veterinary anaesthesia. 10. ed. London: WB Saunders, 2001. p. 341–66.

HAMPF, G. Influence of cold pain in the hand on skin impedance, heart rate and skin temperature. **Physiology & Behavior**, v. 47, n. 1, p. 217–218, 1990.

HARRIS, D. C. **Análise de Química Quantitativa**. 6. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2005. 876 p.

HELLYER, P. W. Management of acute and surgical pain. **Seminars in Veterinary Medicine & Surgery (small animals)**, v. 12, n. 2, p. 106-14, 1997.

HELLYER, P. W.; ROBERTSON, S. A.; FAILS, A. D. **Dor: Conceitos e Manejo**. In: TRANQUILLI, W. J.; THURMON, J. C.; GRIMM, K. A. Lumb & Jones Anestesiologia e Analgesia Veterinária. 1 ed. São Paulo: Roca, 2013. Pag 38-66.

HENNIES, H. H.; FRIDERICH, E.; SCHNEIDER, J. Receptor binding, analgesic and antitussive potency of tramadol and other selected opioids. **Arzneimittel-Forschung**, v. 38, p. 877–880, 1988.

HEWSON, C. J. et al. Canadian veterinarians' use of analgesics in cattle, pigs, and horses in 2004 and 2005. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 48, n. 2, p. 155–164, 2007.

JOHNSON, C. B. et al. Effects of age on the electroencephalographic response to castration in lambs anaesthetized with halothane in oxygen from birth to 6 weeks old. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 36, p. 273–279, 2009.

KIMURA, M.; OBATA, H.; SAITO, S. Antihypersensitivity effects of tramadol hydrochloride in a rat model of postoperative pain. **Anesthesia & Analgesia**, v. 155, n. 2, p. 443-449, 2012.

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

KNYCH, H. K. et al. Pharmacokinetics and selected pharmacodynamic effects of tramadol following intravenous administration to the horse. **Equine Veterinary Journal**, v. 45, n. 4, p. 490–496, 2013.

KUKANICH, B.; PAPICH, M. G. Pharmacokinetics of tramadol and the metabolite O-desmethyltramadol in dogs. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 27, n. 4, p. 239-46, 2004.

LAMONT, L. A.; MATHEWS, K.A. **Opióides, Anti-inflamatórios não esteroidais e analgésicos adjuvantes**. In: TRANQUILLI, W. J.; THURMON, J. C.; GRIMM, K. A. Lumb & Jones Anestesiologia e analgesia veterinária. São Paulo: Roca, 2013. p 270-304.

- LANDONI, M. F.; CUNNINGHAM, F. M.; LESS, P. Comparative pharmacodynamics of flunixin, ketoprofen, and tolafenamic acid in calves. **Veterinary Record**, v.137, p. 428-431, 1995.
- LASCELLES, B. D. X. Analgesia preoperatoria. Opiaceos y AINEs. **Waltham focus**, v.9, n. 4, p 2-9, 1999.
- LE BARS, D.; GOZARIU, M.; CADDEN, S.W. Animal models of nociception. **Pharmacological Reviews**, v. 53, n. 4, p. 597–652, 2001.
- LEWIS, K. S. et al. Effect of analgesic treatment on the physiological consequences of acute pain. **American Journal of Health-System Pharmacy**, v. 51, n. 12, p. 1539–1554, 1994.
- LEWIS, K. S.; HAN, N. H. Tramadol: A new centrally acting analgesic. **American Journal of Health-System Pharmacy**, v. 54, n. 6, p. 643-652, 1997.
- LINTZ, W.; URAGG, H. Quantitative determination of tramadol in human serum by gas chromatography-mass spectrometry. **Journal Chromatography**, v. 341, n. 1, p. 65-79, 1998.
- LUNA, S. L. L. Dor, senciência e bem-estar em animais. Senciência e dor. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, v. 11, supl. 1, p. 17-21, 2008.
- MA, Q. Z. Pharmacokinetics of tramadol hydrochloride in the extracellular fluid of mouse frontal cortex studied by in vivo microdialysis. **Acta Pharmaceutica Sinica**, v. 48, n. 3, p. 406-410, 2013.
- MALONNE, H. et al. Efficacy and tolerability of sustained-release tramadol in the treatment of symptomatic osteoarthritis of the hip or knee: a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled study. **Clinical Therapeutics**, v. 26, n. 11, p. 1774-1782, 2004.
- MASTROCINQUE, S.; FANTONI, D.T. A comparison of preoperative tramadol and morphine for the control of early postoperative pain in bitches submitted to ovariohysterectomy. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v.30, p.220-228, 2003.
- MATSUDA, E. I. et al. Estudo comparativo entre ketoprofeno e flunixin meglumine no tratamento da dor pos operatória de cães submetidos a cirurgia ortopédica. **Clínica veterinária**, n. 19, p 19-22, 1999.
- McCLEANE, G., SMITH, H. Opioids for persistent noncancer pain. **Medical Clinics of North America**, v. 91, p. 177-197, 2007.
- McMILLIAN, C. J. et al. pharmacokinetics of intravenous tramadol in dog. Canadian journal of veterinary research, **Ottawa**, v. 72, n 4, p. 325-331, 2008.
- MELDRUM, M.L. A capsule history of pain management. **Journal of the American Medical Association**, v. 290, p. 2470- 2475, 2003.
- MOORE, N.D. In search of an ideal analgesic for common acute pain. **Acute pain**, v. 11, p. 129-137, 2009.

MULLER, C. J. C.; BOTHA, J. A.; SMITH, W. A. Effect of shade on various parameters of Friesian cows in a Mediterranean climate in South África. **South African Society for Animal Science**, v.24, n. 2, p.61-66, 1993.

MYERS, D. Tramadol. **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine**, v. 14, p. 284-287, 2005.

NARITA T. et al. Safety of reduced-dosage ketoprofen for long-term oral administration in healthy dogs. **American journal of veterinary research**, v. 67, n. 7, p. 1115-1120, 2006.

NASCIMENTO, T. G. **Desenvolvimento e validação de métodos bioanalíticos para quantificação simultânea de fármacos em plasma humano**. João Pessoa, 2004. Tese de Doutorado. Universidade Federal da Paraíba.

NEWTON, H. P.; O'CONNOR, A. M. The Economics of Pain Management. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 29, n. 1, p. 229–250, 2013.

OSTERLOH, G. et al. General pharmacological studies on tramadol, a potent analgesic agent. **Arzneimittelforschung**, v. 28, n. 1, p. 135–151, 1978.

PAOLOZZI, R. J. et al. Diferentes doses de tramadol em cães: ações analgésicas, sedativas e sobre o sistema cardiorrespiratório. **Ciência Rural**, v. 41, n. 8, p. 1417-1423, 2011.

PLUMMER, P. J.; SCHLEINING, J. A. Assessment and Management of Pain in Small Ruminants and Camelids. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 29, n. 1, p. 185–208, 2013.

PYPENDOP, B. H.; SIAO, K. T.; ILKIW, J.E. Effects of tramadol hydrochloride on the thermal threshold in cats. **American Journal of Veterinary Research**, v. 70, n. 12, p. 1465-1470, 2009.

PYPENDOP, B.H.; ILKIW, J.E. Pharmacokinetics of tramadol, and its metabolite O-desmethyl-tramadol, in cats. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 31, n. 1, p. 52-59, 2008.

QUEIROZ, S. C. N.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 68-76, 2001.

RAFFA, R. B.; STONE, D. J. Unexceptional seizure potential of tramadol or its enantiomers or metabolites in mice. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 303, p. 557–562, 2008.

RASMUSSEN, K. E.; PEDERSEN-BJERGGAARD, S. Development in hollow fibre-based, liquid-phase microextraction. **Trends Analytical Chemistry**, v. 23, p. 1-10, 2004.

REUTEMANN, S. H. e FORMENTINI, E. A. Análisis farmacocinético y administración extravascular; errores comunes en el cálculo y la interpretación de los parámetros farmacocinéticos. **Revista FAVE - Ciencias Veterinarias**, v.2, n. 2, p. 147-160, 2003.

SATO, A. et al. Varying changes in heart rate produced by nociceptive stimulation of the skin in rats at different temperatures. **Brain Research**, v. 110, n. 2, p. 301–311, 1976.

SCOTT, P. R. The management and welfare of some common ovine obstetrical problems in the United Kingdom. **The Veterinary Journal**, v. 170, p. 33–40, 2005.

SHARDA, R. T.; TRANQUILLI, W. J. **Anestésicos locais**. In: TRANQUILLI, W. J.; THURMON, J. C.; GRIMM, K. A. Lumb & Jones Anestesiologia e Analgesia Veterinária. 4 ed. São Paulo: Roca, 2013. p. 428-454.

SHAVIT, Y.; FRIDEL, K.; BEIL, B. Postoperative pain management and proinflammatory cytokines: animal and human studies. **Journal Neuroimmune Pharmacology**, n. 1, p. 443-51, 2006.

SILVA, R.G. **Introdução à Bioclimatologia Animal**. São Paulo: Nobel /FAPESP, 286p. 2000.

SIMPLÍCIO, A. A. Caprino-ovinocultura: uma alternativa à geração de emprego e renda. Disponível em: <<http://www.fmvz.unesp.br/fmvz/Informativos/ovinos/utlid14.htm>> Acesso em: 02 de agosto de 2013.

SOLON, L. G. S. **Controle de qualidade físico-químico e biodisponibilidade relativa em ratos de suspensões orais de naproxeno sódico obtidas de farmácias de manipulação na cidade do Natal-RN**. 2010. Dissertação (Mestrado em ciências farmacêuticas). Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal RN.

SOUSA, A. B. et al. Pharmacokinetics of tramadol and o-desmethytramadol in goats after intravenous and oral administration. **Journal veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 31, n. 1, p. 45-51, 2008.

STAMER, U. M. et al. Impact of CYP2D6 genotype on postoperative tramadol analgesia. **Pain**, v. 105, n. 1-2, p. 231-238, 2003.

STILWELL, G. Dor em animais - extrapolação e antropomorfismo. **Medicina Veterinária**, v. 61, p. 4-8, 2005.

STUBSJØEN et al. Exploring non-invasive methods to assess pain in sheep, **Physiology & Behavior**, v. 98, p. 640–648, 2009.

TASAKA A. C. **Antiinflamatórios não esteroidais**. In: SPINOSA H S; GÓRNIAC S. L. BERNARDI M M. 2002. Farmacologia aplicada a medicina veterinária, 3 ed, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p 225-250.

TRESCOT, A. M. et al. Opioid Pharmacology. **Pain Physician**, v. 11, p. 133-153, 2008.

TOUSIGNANT-LAFAMME, Y.; RAINVILLE, P.; MARCHAND, S. Establishing a Link Between Heart Rate and Pain in Healthy Subjects: A Gender Effect. **The Journal of Pain**, v. 6, n. 6, p. 341-347, 2005.

VARCOE-COCKS, K. et al. Pressure algometry to quantify muscle pain in racehorses with suspected sacroiliac dysfunction. **Equine Veterinary Journal**, v. 38, n.6, p. 558-562, 2006.

VETTORATO, E.; BACCO, S. A comparison of the sedative and analgesic properties of pethidine (meperidine) and butorphanol in dogs. **Journal of Small Animal Practice**, v. 52, p. 426–432, 2011.

VETTORATO, E. et al. Pharmacokinetics and efficacy of intravenous and extradural tramadol in dogs. *The Veterinary Journal*, v. 183, n. 3, p. 310-315, 2010.

VOGEL, W. et al. The effect of tramadol, a new analgesic, on respiration and cardiovascular function. **Arzneimittelforschung**, v. 28, n. 1, p. 183-186 1978.

WU, W.N. et al. Metabolism of the analgesic drug, tramadol hydrochloride, in rat and dog. **Xenobiotica**, v. 31, p. 423–441, 2001.

YANARATES, O. et al. Spinal 5-HT₇ receptors play an important role in the antinociceptive and antihyperalgesic effects of tramadol and its metabolite, O-Desmethyltramadol, via activation of descending serotonergic pathways. **Anesthesiology**, v. 112, p. 696-710, 2010.

APÊNDICE

Anexo A – Parecer Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Rural do Semi-Árido.



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

PARECER DE PROJETO ENCAMINHADO A CEUA-UFERSA

Parecer N° 04/2013 PROCESSO N° 23091.000684/2013-04

Data de Entrada: 14/02/2013

Aprovado: 27/02/2013

1. Pessoal Responsável:
Valéria Veras de Paula

2. Título do Projeto:

Dose terapêutica e biodisponibilidade absoluta do Tramadol em caprinos (*Capra hircus*)

3. Objetivo:

Determinar a dose intravenosa e intramuscular do Tramadol em caprinos saudáveis, bem como verificar os efeitos clínicos e comportamentais da administração do fármaco nestes animais e posteriormente realizar um estudo de biodisponibilidade absoluta do tramadol aplicado na dose terapêutica anteriormente encontrada.

4. Considerações:

Após apreciação pelos membros, a comissão julgou que o protocolo de procedimentos está devidamente preenchido e de acordo com as especificações da Comissão de Ética no Uso de Animais da UFERSA. O problema em questão tem relevância científica. O protocolo experimental está bem discriminado e coerente. O número experimental de animais está coerente com os objetivos da pesquisa. Os métodos experimentais que incluem



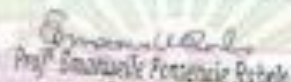
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

procedimentos cirúrgicos e administração de substâncias estão corretamente descritos e preveem tratamento pré-operatório e pós-operatório para atenuação da dor e/ou sofrimento dos animais. A metodologia empregada é descrita na literatura e durante os procedimentos, os animais serão submetidos a estresse ou sofrimento mínimos. Não será necessária a eutanásia dos animais e todo o procedimento de manipulação dos animais será realizado com acompanhamento técnico especializado e com o uso de material adequado.

5. Parecer final:

FAVORÁVEL a aprovação do projeto.

Massoró, 27 de fevereiro de 2013.


Prof.^a Emanuelle Fontenele Rabelo
Presidente
Comissão de Ética no uso de animais
CEUA/UFERSA

Profa. Emanuelle Fontenele Rabelo
Presidente da CEUA

Anexo B – Planilhas do software WinNonLin

Parâmetros farmacocinéticos finais para cada um dos animais.

SUJ	TX	Parameter	Estimate	MEAN	S.E.M.	StdError	CV%	UnivarC_Lower	UnivarC_Upper	PlanarCI_Lower	PlanarCI_Upper
1	2 mg/kg	K10	0,0001	0,0692	0,0521	0,593909	569071,3	-1,64883	1,649039	-3,046372	3,046581
3	2 mg/kg	K10	0,0509			0,36609	719,52	-0,890171	0,99193	-1,646339	1,748098
5	2 mg/kg	K10	0,0041			2,777782	67636,69	-45,831188	45,839402	-76,95486	76,963074
6	2 mg/kg	K10	0,2218			0,645704	291,16	-1,833817	2,277353	-3,697499	4,141035
7	2 mg/kg	K10	NE			0,962393	*****	-2,671989	2,672003	-4,936619	4,936633
1	2 mg/kg	K12	0,9439	1,1250	0,2555	0,538209	57,02	-0,55037	2,438204	-1,816842	3,704676
3	2 mg/kg	K12	0,9447			0,573839	60,75	-0,53042	2,419739	-1,7157	3,605018
5	2 mg/kg	K12	0,9774			2,543597	260,24	-40,99367	42,948479	-69,493408	71,448218
6	2 mg/kg	K12	0,6417			0,607305	94,63	-1,291595	2,575092	-3,044448	4,327945
7	2 mg/kg	K12	2,1174			0,987884	46,66	-0,625404	4,860135	-2,950017	7,184749
1	2 mg/kg	K21	0,2907	0,3601	0,0865	0,485133	166,9	-1,056257	1,637597	-2,197835	2,779175
3	2 mg/kg	K21	0,3675			0,642455	174,81	-1,283952	2,018967	-2,610959	3,345974
5	2 mg/kg	K21	0,1514			0,69232	457,36	-11,272377	11,575123	-19,029479	19,332225
6	2 mg/kg	K21	0,6750			2,423413	359,02	-7,039887	8,389887	-14,034536	15,384535
7	2 mg/kg	K21	0,3158			0,484049	153,29	-1,028145	1,659688	-2,167171	2,798714
1	2 mg/kg	Volume	3,5745	2,6533	0,3879	0,644014	18,02	1,786492	5,362583	0,271048	6,878027
3	2 mg/kg	Volume	2,9014			0,688491	23,73	1,131626	4,671217	-0,290469	6,093312
5	2 mg/kg	Volume	1,7001			0,443072	26,06	-5,610932	9,011051	-10,575336	13,975454
6	2 mg/kg	Volume	3,3094			0,737896	22,3	0,960278	5,658433	-1,169497	7,788207
7	2 mg/kg	Volume	1,7812			0,487586	27,37	0,427447	3,134922	-0,719903	4,282272
8	4 mg/kg	K10	NE	0,1539	0,0644	2,261101	114,08	-3,364733	7,328661	-7,348665	11,312593
9	4 mg/kg	K10	NE			2,336577	*****	-38,555109	38,555113	-64,735296	64,7353
10	4 mg/kg	K10	0,0542			3,273807	6042,15	-10,367916	10,476282	-19,817039	19,925404
11	4 mg/kg	K10	0,0002			9,716547	5209938	-42,049037	42,04941	-82,971059	82,971432

12	4 mg/kg	K10	0,1718			0,22744	132,39	-0,459677	0,803257	-0,994872	1,338451
13	4 mg/kg	K10	0,1686			0,132084	78,36	-0,170964	0,508091	-0,443787	0,780914
14	4 mg/kg	K10	NE			3,168211	158,41	-11,710719	15,710715	-25,053897	29,053893
15	4 mg/kg	K10	0,3747			0,07358	19,64	0,19468	0,55477	0,05595	0,6935
8	4 mg/kg	K12	2,4465	1,1684	0,2801	2,175137	88,91	-2,696966	7,589881	-6,529434	11,422349
9	4 mg/kg	K12	1,7216			2,439386	141,7	-38,529982	41,973082	-65,862095	69,305194
10	4 mg/kg	K12	1,0113			3,009389	297,59	-8,569061	10,591597	-17,254999	19,277535
11	4 mg/kg	K12	1,9261			8,201274	425,8	-33,565649	37,417841	-68,105978	71,958169
12	4 mg/kg	K12	0,9913			0,25551	25,78	0,281899	1,700701	-0,319348	2,301948
13	4 mg/kg	K12	0,6008			3,141249	522,85	-7,473926	8,675517	-13,962254	15,163845
14	4 mg/kg	K12	0,1268			12,936357	10201,79	-55,856431	56,110041	-110,338941	110,592551
15	4 mg/kg	K12	0,5229			0,201787	38,59	0,029097	1,016606	-0,351357	1,39706
8	4 mg/kg	K21	0,0697	0,2082	0,0588	0,102375	146,89	-0,172385	0,311773	-0,352763	0,492151
9	4 mg/kg	K21	0,1874			0,492616	262,86	-7,941092	8,315904	-13,460609	13,835421
10	4 mg/kg	K21	0,0970			0,50627	521,69	-1,514656	1,708743	-2,975893	3,169979
11	4 mg/kg	K21	0,1444			1,708205	1183,1	-7,248024	7,536791	-14,442265	14,731032
12	4 mg/kg	K21	0,2983			0,209758	70,33	-0,284117	0,880631	-0,777704	1,374218
13	4 mg/kg	K21	NE			9,61251	510,33	-22,825796	26,592977	-42,680673	46,447854
14	4 mg/kg	K21	NE			367,456669	9140,78	-1586,181486	1594,221424	-3133,754878	3141,794816
15	4 mg/kg	K21	0,4526			0,321189	70,97	-0,33333	1,238514	-0,938907	1,844092
8	4 mg/kg	Volume	1,4974	2,8817	0,4972	0,193913	12,95	1,038912	1,955982	0,697248	2,297646
9	4 mg/kg	Volume	NE			49,05496	106,43	-763,347538	855,532834	-1312,984022	1405,169317
10	4 mg/kg	Volume	2,2523			0,258077	11,46	1,430687	3,073855	0,685803	3,818739
11	4 mg/kg	Volume	3,3786			1,066772	31,57	-1,237955	7,995148	-5,730753	12,487945
12	4 mg/kg	Volume	4,6870			0,463601	9,89	3,399839	5,974128	2,308929	7,065038
13	4 mg/kg	Volume	4,4234			2,191469	49,54	-1,209863	10,056676	-5,736397	14,58321
14	4 mg/kg	Volume	1,4614			2,002701	137,04	-7,205515	10,128216	-15,64005	18,56275
15	4 mg/kg	Volume	2,4716			0,223078	9,03	1,925795	3,0175	1,505198	3,438097

Parâmetros farmacocinéticos secundários

SUJ	Tx	Parameter	Estimate	MEAN	S.E.M.	StdError	CV%
1	2 mg/kg	A	0,4278	0,6553	0,1426	0,12354	28,88
3	2 mg/kg	A	0,5068			0,177669	35,06
5	2 mg/kg	A	1,0197			0,348577	34,19
6	2 mg/kg	A	0,3450			0,429357	124,45
7	2 mg/kg	A	0,9771			0,292881	29,97
1	2 mg/kg	Alpha	1,2347	1,5167	0,2347	0,786906	63,73
3	2 mg/kg	Alpha	1,3492			1,208172	89,55
5	2 mg/kg	Alpha	1,1323			0,825934	72,94
6	2 mg/kg	Alpha	1,4341			2,805203	195,6
7	2 mg/kg	Alpha	2,4331			1,338378	55,01
1	2 mg/kg	Alpha-HL	0,5614	0,4911	0,0560	0,35775	63,72
3	2 mg/kg	Alpha-HL	0,5138			0,459881	89,51
5	2 mg/kg	Alpha-HL	0,6121			0,447139	73,05
6	2 mg/kg	Alpha-HL	0,4833			0,945011	195,52
7	2 mg/kg	Alpha-HL	0,2849			0,156653	54,99
1	2 mg/kg	AUC	NE	100,9080	92,8240	*****	568498,01
3	2 mg/kg	AUC	13,55			96,163284	709,79
5	2 mg/kg	AUC	286,45			193527,8725	67560,58
6	2 mg/kg	AUC	2,73			7,644869	280,53
7	2 mg/kg	AUC	NE			*****	*****
1	2 mg/kg	AUMC	*****	173694,4228	173207,2790	*****	1136580,63
3	2 mg/kg	AUMC	950,73			14624,804	1538,27
5	2 mg/kg	AUMC	520108,57			*****	135675,69
6	2 mg/kg	AUMC	23,97			176,357404	735,71
7	2 mg/kg	AUMC	*****			*****	*****
1	2 mg/kg	B	0,1317	0,1752	0,0226	0,110541	83,93
3	2 mg/kg	B	0,1826			0,162816	89,19
5	2 mg/kg	B	0,1568			0,312204	199,14
6	2 mg/kg	B	0,2593			0,478602	184,55
7	2 mg/kg	B	0,1457			0,126962	87,13
1	2 mg/kg	Beta	0,0000	0,0238	0,0203	0,139848	569182,31
3	2 mg/kg	Beta	0,0139			0,112658	812,88
5	2 mg/kg	Beta	0,0005			0,373539	68037,3
6	2 mg/kg	Beta	0,1044			0,479827	459,7
7	2 mg/kg	Beta	0,0000			0,1249	*****
1	2 mg/kg	Beta-HL	NE	28,3272	21,6865	*****	568613,81
3	2 mg/kg	Beta-HL	50,013711			406,165278	812,11
5	2 mg/kg	Beta-HL	NE			858130,4709	67970
6	2 mg/kg	Beta-HL	6,640692			30,503459	459,34
7	2 mg/kg	Beta-HL	NE			*****	*****
1	2 mg/kg	CI	0,0004	0,1778	0,1419	2,122933	569066,51
3	2 mg/kg	CI	0,1476			1,048867	710,5

5	2 mg/kg	CI	0,0070			4,721797	67628,14
6	2 mg/kg	CI	0,7339			2,060913	280,81
7	2 mg/kg	CI	0,0000			1,714199	*****
1	2 mg/kg	Cmax	0,5595	0,8305	0,1322	0,100705	18
3	2 mg/kg	Cmax	0,6893			0,163408	23,71
5	2 mg/kg	Cmax	1,1764			0,306297	26,04
6	2 mg/kg	Cmax	0,6043			0,134618	22,28
7	2 mg/kg	Cmax	1,1228			0,307064	27,35
1	2 mg/kg	K10-HL	NE	61,8415	53,5529	*****	568502,83
3	2 mg/kg	K10-HL	13,62			97,925072	718,8
5	2 mg/kg	K10-HL	168,78			114040,1872	67569,12
6	2 mg/kg	K10-HL	3,13			9,091297	290,87
7	2 mg/kg	K10-HL	NE			*****	*****
1	2 mg/kg	MRT	NE	631,5567	592,3362	*****	568650,55
3	2 mg/kg	MRT	70,17			582,033704	829,41
5	2 mg/kg	MRT	1815,70			1237991,086	68182,62
6	2 mg/kg	MRT	8,80			40,099388	455,87
7	2 mg/kg	MRT	NE			*****	*****
1	2 mg/kg	Vss	15,18	11,6799	1,5245	23,550606	155,12
3	2 mg/kg	Vss	10,36			12,671861	122,32
5	2 mg/kg	Vss	12,68			78,969651	622,93
6	2 mg/kg	Vss	6,46			11,427399	177,01
7	2 mg/kg	Vss	13,72			20,835901	151,81
8	4 mg/kg	A	2,6479	0,9772	0,3043	0,343297	12,97
9	4 mg/kg	A	0,0783			0,0901	115,13
10	4 mg/kg	A	1,6336			0,263747	16,15
11	4 mg/kg	A	1,1014			0,461135	41,87
12	4 mg/kg	A	0,6923			0,090442	13,06
13	4 mg/kg	A	0,2424			0,468864	193,44
14	4 mg/kg	A	0,2760			39,784709	14416,99
15	4 mg/kg	A	1,1457			0,227962	19,9
8	4 mg/kg	Alpha	4,4672	2,3783	0,4629	0,53654	12,01
9	4 mg/kg	Alpha	1,9090			1,922251	100,7
10	4 mg/kg	Alpha	1,1580			0,533603	46,08
11	4 mg/kg	Alpha	2,0707			2,686943	129,76
12	4 mg/kg	Alpha	1,4254			0,393125	27,58
13	4 mg/kg	Alpha	2,5273			12,552794	496,68
14	4 mg/kg	Alpha	4,2590			370,698528	8703,81
15	4 mg/kg	Alpha	1,2100			0,475847	39,33
8	4 mg/kg	Alpha-HL	0,1552	0,3685	0,0607	0,018629	12,01
9	4 mg/kg	Alpha-HL	0,3631			0,365496	100,66
10	4 mg/kg	Alpha-HL	0,5986			0,276952	46,27
11	4 mg/kg	Alpha-HL	0,3347			0,435505	130,1
12	4 mg/kg	Alpha-HL	0,4863			0,134074	27,57
13	4 mg/kg	Alpha-HL	0,2743			1,361384	496,38
14	4 mg/kg	Alpha-HL	0,1627			14,153165	8696,4

15	4 mg/kg	Alpha-HL	0,5728			0,225194	39,31
8	4 mg/kg	AUC	1,35	8,3575	4,9365	1,513683	112,31
9	4 mg/kg	AUC	NE			*****	*****
10	4 mg/kg	AUC	32,78			1976,52344	6030,09
11	4 mg/kg	AUC	NE			*****	5204717,02
12	4 mg/kg	AUC	4,97			6,440752	129,65
13	4 mg/kg	AUC	5,36			2,750232	51,27
14	4 mg/kg	AUC	1,37			0,965253	70,53
15	4 mg/kg	AUC	4,32			0,668956	15,49
8	4 mg/kg	AUMC	24,55	43,4210	21,4341	109,340497	445,37
9	4 mg/kg	AUMC	*****			*****	*****
10	4 mg/kg	AUMC	NE			884710,2409	12805,25
11	4 mg/kg	AUMC	*****			*****	*****
12	4 mg/kg	AUMC	125,03			398,227599	318,5
13	4 mg/kg	AUMC	41,98			57,416257	136,78
14	4 mg/kg	AUMC	0,71			1,713005	242,67
15	4 mg/kg	AUMC	24,84			14,446989	58,16
8	4 mg/kg	B	0,0233	0,2218	0,0940	0,017327	74,22
9	4 mg/kg	B	0,0085			0,01118	131,23
10	4 mg/kg	B	0,1424			0,310064	217,69
11	4 mg/kg	B	0,0825			0,527536	639,08
12	4 mg/kg	B	0,1611			0,06755	41,93
13	4 mg/kg	B	0,6619			0,419954	63,45
14	4 mg/kg	B	NE			41,800143	1698,34
15	4 mg/kg	B	0,4726			0,238091	50,38
8	4 mg/kg	Beta	0,0309	0,0482	0,0226	0,077947	252,08
9	4 mg/kg	Beta	0,0000			0,229386	*****
10	4 mg/kg	Beta	0,0045			0,296081	6520,4
11	4 mg/kg	Beta	0,0000			0,677658	5210992,09
12	4 mg/kg	Beta	0,0359			0,06428	178,82
13	4 mg/kg	Beta	0,1256			0,119596	95,2
14	4 mg/kg	Beta	NE			11,512767	609,87
15	4 mg/kg	Beta	0,1402			0,073202	52,23
8	4 mg/kg	Beta-HL	22,42	34,1962	23,9544	56,473947	251,93
9	4 mg/kg	Beta-HL	NE			*****	*****
10	4 mg/kg	Beta-HL	152,65			9944,472779	6514,66
11	4 mg/kg	Beta-HL	NE			*****	5205787,58
12	4 mg/kg	Beta-HL	19,28			34,454414	178,68
13	4 mg/kg	Beta-HL	5,52			5,246589	95,09
14	4 mg/kg	Beta-HL	0,37			2,238627	609,67
15	4 mg/kg	Beta-HL	4,95			2,580394	52,18
8	4 mg/kg	CI	2,968	1,0613	0,4313	3,336594	112,42
9	4 mg/kg	CI	0,000			107,698994	*****
10	4 mg/kg	CI	0,122			7,366139	6036,12
11	4 mg/kg	CI	0,001			32,828188	5209921,74
12	4 mg/kg	CI	0,805			1,044941	129,78

13	4 mg/kg	CI	0,746			0,382634	51,32
14	4 mg/kg	CI	2,923			2,063398	70,6
15	4 mg/kg	CI	0,926			0,143605	15,5
8	4 mg/kg	Cmax	2,67	1,4789	0,3235	0,345565	12,94
9	4 mg/kg	Cmax	0,09			0,092267	106,32
10	4 mg/kg	Cmax	1,78			0,203299	11,45
11	4 mg/kg	Cmax	1,18			0,373444	31,54
12	4 mg/kg	Cmax	0,85			0,08433	9,88
13	4 mg/kg	Cmax	0,90			0,447556	49,49
14	4 mg/kg	Cmax	2,74			3,747427	136,91
15	4 mg/kg	Cmax	1,62			0,145918	9,02
8	4 mg/kg	K10-HL	0,35	3,9143	1,9024	0,398584	113,97
9	4 mg/kg	K10-HL	NE			*****	*****
10	4 mg/kg	K10-HL	12,79			772,185981	6036,12
11	4 mg/kg	K10-HL	NE			*****	5204733,26
12	4 mg/kg	K10-HL	4,03			5,336596	132,26
13	4 mg/kg	K10-HL	4,11			3,218955	78,28
14	4 mg/kg	K10-HL	0,35			0,548462	158,25
15	4 mg/kg	K10-HL	1,85			0,362851	19,62
8	4 mg/kg	MRT	18,22	44,7098	33,4143	60,9027	334,34
9	4 mg/kg	MRT	NE			*****	*****
10	4 mg/kg	MRT	210,78			14293,63644	6781,22
11	4 mg/kg	MRT	NE			*****	5206223,69
12	4 mg/kg	MRT	25,17			47,648346	189,32
13	4 mg/kg	MRT	7,82			6,925826	88,51
14	4 mg/kg	MRT	0,52			0,959174	185,97
15	4 mg/kg	MRT	5,75			2,519246	43,8
8	4 mg/kg	Vss	54,06	23,0240	8,0124	121,298024	224,37
9	4 mg/kg	Vss	NE			1630,487932	347,27
10	4 mg/kg	Vss	25,72			193,35169	751,68
11	4 mg/kg	Vss	48,45			730,975559	1508,74
12	4 mg/kg	Vss	20,26			12,451562	61,44
13	4 mg/kg	Vss	5,83			2,736861	46,91
14	4 mg/kg	Vss	1,51			2,142172	142,11
15	4 mg/kg	Vss	5,33			1,626615	30,54

Concentração plasmática obtida para cada um dos momentos de avaliação dos caprinos.

PREDICCIONES		Dosis 2 mg/kg		OBSERVACIONES	
Tiempo (h)	Cp_Pred	Sujeto	Tratamiento	Tiempo (h)	Cp_Obs
0	0,7137	1	A	0	0
0,204082	0,5951	1	A	0,083	0,456045361
0,408163	0,5028	1	A	0,25	0,465064788
0,612245	0,4308	1	A	0,5	0,513699636
0,816327	0,3748	1	A	0,75	0,306263504
1,02041	0,3311	1	A	1	0,207976468
1,22449	0,2971	1	A	2	0,158579176
1,42857	0,2706	1	A	4	0,116222843
1,63265	0,2500	1	A	6	ND
1,83673	0,2339	1	A	7	ND
2,04082	0,2214	1	A	8	0,171625277
2,2449	0,2116	1	A	9	ND
2,44898	0,2040	1	A	10	ND
2,65306	0,1981	1	A	12	ND
2,85714	0,1935	1	A	16	ND
3,06122	0,1898	1	A	24	ND
3,26531	0,1870	2	A	0	0
3,46939	0,1848	2	A	0,083	0,667599712
3,67347	0,1831	2	A	0,25	0,348447377
3,87755	0,1817	2	A	0,5	0,416447636
4,08163	0,1807	2	A	0,75	ND
4,28571	0,1798	2	A	1	ND
4,4898	0,1792	2	A	2	ND
4,69388	0,1787	2	A	4	ND
4,89796	0,1782	2	A	6	ND
5,10204	0,1779	2	A	7	0,327794998
5,30612	0,1777	2	A	8	ND
5,5102	0,1774	2	A	9	ND
5,71429	0,1773	2	A	10	ND
5,91837	0,1771	2	A	12	ND
6,12245	0,1770	2	A	16	ND
6,32653	0,1769	2	A	24	ND
6,53061	0,1768	3	A	0	0
6,73469	0,1767	3	A	0,083	0,644612126
6,93878	0,1767	3	A	0,25	0,47639034
7,14286	0,1766	3	A	0,5	0,445261566
7,34694	0,1766	3	A	0,75	0,518663311
7,55102	0,1765	3	A	1	0,320356843
7,7551	0,1765	3	A	2	0,140597015
7,95918	0,1764	3	A	4	ND

8,16327	0,1764	3	A	6	0,324710268
8,36735	0,1764	3	A	7	0,176572136
8,57143	0,1763	3	A	8	ND
8,77551	0,1763	3	A	9	ND
8,97959	0,1762	3	A	10	0,126970394
9,18367	0,1762	3	A	12	ND
9,38776	0,1762	3	A	16	ND
9,59184	0,1761	3	A	24	ND
9,79592	0,1761	4	A	0	0
10	0,1761	4	A	0,083	0,697871626
		4	A	0,25	0,426326835
		4	A	0,5	ND
		4	A	0,75	3,843680056
		4	A	1	ND
		4	A	2	ND
		4	A	4	ND
		4	A	6	ND
		4	A	7	ND
		4	A	8	ND
		4	A	9	ND
		4	A	10	ND
		4	A	12	ND
		4	A	16	ND
		4	A	24	ND
		5	A	0	0
		5	A	0,083	ND
		5	A	0,25	0,983999537
		5	A	0,5	0,662707209
		5	A	0,75	ND
		5	A	1	0,540079418
		5	A	2	ND
		5	A	4	0,16700388
		5	A	6	0,196016294
		5	A	7	ND
		5	A	8	ND
		5	A	9	ND
		5	A	10	ND
		5	A	12	ND
		5	A	16	ND
		5	A	24	ND
		6	A	0	0
		6	A	0,083	0,532493916
		6	A	0,25	0,519881757
		6	A	0,5	0,4286468
		6	A	0,75	0,467195889
		6	A	1	0,231068899

6	A	2	0,265642103
6	A	4	0,167423128
6	A	6	ND
6	A	7	ND
6	A	8	ND
6	A	9	ND
6	A	10	ND
6	A	12	ND
6	A	16	ND
6	A	24	ND
7	A	0	0
7	A	0,083	0,883440257
7	A	0,25	0,701035449
7	A	0,5	0,750691736
7	A	0,75	0,186616213
7	A	1	0,279848774
7	A	2	0,139232413
7	A	4	ND
7	A	6	ND
7	A	7	0,133077982
7	A	8	ND
7	A	9	ND
7	A	10	0,198089895
7	A	12	ND
7	A	16	ND
7	A	24	ND

PREDICCIONES		Dosis 4 mg/kg		OBSERVACIONES	
Tiempo (h)	Cp_Pred	Sujeto	Tratamiento	Tiempo (h)	Cp_Obs
0	1,4961	8	B	0	0
0,252525	1,0854	8	B	0,083	1,707038916
0,505051	0,8050	8	B	0,25	1,251675633
0,757576	0,6131	8	B	0,5	0,244567796
1,0101	0,4815	8	B	0,75	0,083847662
1,26263	0,3910	8	B	1	0,088319818
1,51515	0,3285	8	B	2	0,035024024
1,76768	0,2850	8	B	4	0,017060429
2,0202	0,2545	8	B	6	0,019000334
2,27273	0,2328	8	B	7	0,018611297
2,52525	0,2172	8	B	8	ND
2,77778	0,2057	8	B	9	ND
3,0303	0,1970	8	B	10	0,013796281
3,28283	0,1902	8	B	12	ND
3,53535	0,1848	8	B	16	ND
3,78788	0,1803	8	B	24	0,011909738
4,0404	0,1764	9	B	0	0
4,29293	0,1729	9	B	0,083	ND
4,54545	0,1698	9	B	0,25	ND
4,79798	0,1669	9	B	0,5	0,04496788
5,05051	0,1642	9	B	0,75	0,031244722
5,30303	0,1616	9	B	1	0,021179164
5,55556	0,1590	9	B	2	ND
5,80808	0,1566	9	B	4	0,005430818
6,06061	0,1542	9	B	6	ND
6,31313	0,1519	9	B	7	ND
6,56566	0,1496	9	B	8	0,010601643
6,81818	0,1474	9	B	9	ND
7,07071	0,1451	9	B	10	ND
7,32323	0,1430	9	B	12	ND
7,57576	0,1409	9	B	16	ND
7,82828	0,1388	9	B	24	ND
8,08081	0,1367	10	B	0	0
8,33333	0,1347	10	B	0,083	1,500905388
8,58586	0,1327	10	B	0,25	1,563182418
8,83838	0,1307	10	B	0,5	1,147291992
9,09091	0,1287	10	B	0,75	0,793772444
9,34343	0,1268	10	B	1	ND
9,59596	0,1249	10	B	2	0,287706935
9,84848	0,1231	10	B	4	ND
10,101	0,1213	10	B	6	ND
10,3535	0,1195	10	B	7	0,150532691
10,6061	0,1177	10	B	8	0,195164968

10,8586	0,1159	10	B	9	ND
11,1111	0,1142	10	B	10	ND
11,3636	0,1125	10	B	12	ND
11,6162	0,1108	10	B	16	ND
11,8687	0,1092	10	B	24	ND
12,1212	0,1076	11	B	0	0
12,3737	0,1060	11	B	0,083	0,831889048
12,6263	0,1044	11	B	0,25	ND
12,8788	0,1028	11	B	0,5	0,681060439
13,1313	0,1013	11	B	0,75	0,318263187
13,3838	0,0998	11	B	1	0,176294411
13,6364	0,0983	11	B	2	ND
13,8889	0,0969	11	B	4	ND
14,1414	0,0954	11	B	6	ND
14,3939	0,0940	11	B	7	ND
14,6465	0,0926	11	B	8	ND
14,899	0,0912	11	B	9	0,123345467
15,1515	0,0899	11	B	10	0,122656849
15,404	0,0885	11	B	12	ND
15,6566	0,0872	11	B	16	ND
15,9091	0,0859	11	B	24	ND
16,1616	0,0846	12	B	0	0
16,4141	0,0834	12	B	0,083	0,747559585
16,6667	0,0822	12	B	0,25	0,722222957
16,9192	0,0809	12	B	0,5	0,476978745
17,1717	0,0797	12	B	0,75	0,33558107
17,4242	0,0785	12	B	1	0,384519667
17,6768	0,0774	12	B	2	0,191701863
17,9293	0,0762	12	B	4	0,137328864
18,1818	0,0751	12	B	6	ND
18,4343	0,0740	12	B	7	ND
18,6869	0,0729	12	B	8	ND
18,9394	0,0718	12	B	9	0,117790256
19,1919	0,0707	12	B	10	ND
19,4444	0,0697	12	B	12	ND
19,697	0,0686	12	B	16	ND
19,9495	0,0676	12	B	24	ND
20,202	0,0666	13	B	0	0
20,4545	0,0656	13	B	0,083	0,766020166
20,7071	0,0647	13	B	0,25	0,914176974
20,9596	0,0637	13	B	0,5	0,908295134
21,2121	0,0627	13	B	0,75	0,491206668
21,4646	0,0618	13	B	1	0,487015804
21,7172	0,0609	13	B	2	0,894503804
21,9697	0,0600	13	B	4	0,306918515
22,2222	0,0591	13	B	6	ND

22,4747	0,0582	13	B	7	0,578831341
22,7273	0,0574	13	B	8	0,173121968
22,9798	0,0565	13	B	9	ND
23,2323	0,0557	13	B	10	ND
23,4848	0,0548	13	B	12	ND
23,7374	0,0540	13	B	16	ND
23,9899	0,0532	13	B	24	ND
24,2424	0,0524	14	B	0	0
24,4949	0,0516	14	B	0,083	1,763799061
24,7475	0,0509	14	B	0,25	1,589656652
25	0,0501	14	B	0,5	2,429700128
		14	B	0,75	1,615611391
		14	B	1	0,587402174
		14	B	2	0,222958827
		14	B	4	ND
		14	B	6	ND
		14	B	7	ND
		14	B	8	ND
		14	B	9	ND
		14	B	10	ND
		14	B	12	ND
		14	B	16	ND
		14	B	24	ND
		15	B	0	0
		15	B	0,083	1,39874893
		15	B	0,25	1,340326976
		15	B	0,5	1,150960826
		15	B	0,75	0,960713838
		15	B	1	0,750995819
		15	B	2	0,356863683
		15	B	4	0,386727146
		15	B	6	0,209643466
		15	B	7	ND
		15	B	8	0,143644179
		15	B	9	0,125986814
		15	B	10	ND
		15	B	12	ND
		15	B	16	ND
		15	B	24	ND