



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

ANDRESSA NUNES MOUTA

**PERFIL FARMACOCINÉTICO DO TRAMADOL E O-DESMETILTRAMADOL
APÓS ADMINISTRAÇÃO INTRAVENOSA EM JUMENTOS (*Equus asinus*)**

MOSSORÓ

2019

ANDRESSA NUNES MOUTA

**PERFIL FARMACOCINÉTICO DO TRAMADOL E O-DESMETILTRAMADOL
APÓS ADMINISTRAÇÃO INTRAVENOSA EM JUMENTOS (*Equus asinus*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Valéria Veras de Paula.

MOSSORÓ

2019

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e sua respectiva autora sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

M924p Mouta, Andressa Nunes.

Perfil farmacocinético do tramadol e O-desmetiltramadol após administração intravenosa em jumentos (*Equis asinus*) / Andressa Nunes Mouta. - 2019.

51 f.: il.

Orientadora: Valéria Veras de Paula. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, 2019.

1. Equideos. 2. M1; 3. farmacocinética. 4. analgesia. 5. Jumentos Nordestinos. I. de Paula, Valéria Veras, orient.

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

ANDRESSA NUNES MOUTA

**PERFIL FARMACOCINÉTICO DO TRAMADOL E O-DESMETILTRAMADOL
APÓS ADMINISTRAÇÃO INTRAVENOSA EM JUMENTOS (*Equus asinus*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Defendida em: 12/12/2019

BANCA EXAMINADORA



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



Prof. Dr. Raimundo Alves Barrêto Júnior (UFERSA)
Membro Examinador



Prof^a. Dr^a. Maria Rociene Abrantes (CISNE)
Membro Examinador

DEDICATÓRIA

“Dedico a todas as pessoas que acompanharam e contribuíram para a realização deste trabalho. Em especial, dedico aos meus pais e irmãos, que são a maior fonte de apoio em minha vida.”

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me proporcionar saúde e paciência, impedindo que eu desistisse diante de todos os obstáculos, principalmente no início.

Gratidão à minha orientadora, Valéria Veras de Paula, por todos os conhecimentos, ensinamentos e conselhos. Conquistei muita sabedoria e experiência sob esta orientação. Serei eternamente grata por ter aprendido muito, não somente sobre Anestesiologia, mas sobre competência, profissionalismo e determinação. Agradeço pela confiança e principalmente por ter ensinado diariamente que é possível realizar pesquisa quando há comprometimento e dedicação.

Agradeço ao professor Gabriel Araújo que realizou todas as análises farmacocinéticas e que, pacientemente repassou seus conhecimentos, que muito contribuíram para a execução do estudo; agradeço aos meus colegas de laboratório, Isabelle Lima, Gláucia Carlos, Luã Barbalho e Letícia Alves; aos membros do laboratório de Medicina Veterinária Interna, professor Barreto Júnior, João Paulo Albuquerque e Luan Rodrigues. Todos contribuíram na realização do experimento, de modo que a execução do projeto só foi possível com toda a ajuda dessa equipe. Agradeço aos animais que foram a fonte do estudo. Todo respeito à vida animal.

Agradeço a CAPES pelo apoio financeiro para realização do mestrado; a UFERSA pelo suporte para realização das coletas das amostras e conclusão do mestrado; a Faculdade de Ciencias Químicas da Universidad Autónoma de San Luis do Potosi, pela disponibilidade do laboratório para o estudo farmacocinético.

Agradeço aos meus pais, Gilson Mouta e Alexandra Costa, por todo o suporte amoroso, psicológico e financeiro. Por ser minha fonte de inspiração e por sempre orientar sobre a importância dos estudos desde cedo. Independente da distância, compreensão, apoio, cuidado e amor incondicional nunca faltaram.

Aos meus irmãos, Ângelo Mouta, Alba Mouta e Júnior Mouta, por sempre oferecerem palavras de conforto e pela motivação constante. Ângelo, minha eterna gratidão. Agradeço às minhas sobrinhas, Giovanna Mouta e Beatriz Mouta e à minha cunhada Roselane Rocha, por

proporcionarem amor e felicidade quando eu ia para Sobral nos fins de semana e feriados. Agradeço à minha tia Dagmar Costa e madrinha Marta Maria, por todos os conselhos sobre crescimento pessoal e profissional e por todo o apoio nos fins de semana em Fortaleza.

Agradeço aos meus pequenos de quatro patas, Pétala, Bela e Dody, que tanto me inspiraram a seguir firme na caminhada da Medicina Veterinária.

Agradeço ao Diego Carvalho pela ajuda não somente durante o mestrado, mas por ser sempre tão presente. Na rotina diária, toda nossa cumplicidade e palavras de apoio foram essenciais, tornando-se uma parceria forte e concreta, que muito contribuiu para meu fortalecimento. Agradeço ao Luis Filho por toda a ajuda durante o começo dessa jornada, pelo incentivo e todo o suporte.

Agradeço à turma do mestrado em Ciência animal, em especial aos queridos Luan Rodrigues, Isabelle Lima, João Paulo Albuquerque, Manuela Costa e Igor Reno, pois além da contribuição nos trabalhos durante as disciplinas, foram pessoas que me fortaleceram nesta caminhada. Agradeço à Letícia Alves, aluna da graduação e monitora de Anestesiologia, grande amiga dentro e fora da universidade.

Aos meus queridos amigos de Sobral, em especial à Alana Santos, Gândara Mouta, Hiago Gomes, Samily Émile, Franciele Monteiro, Ana Kétylla, Igor Saraiva, Alanne Pimentel, Manoel Machado e José Victor. Grandes amigos que sempre me enviaram boas energias e palavras de amor quando eu mais precisava.

Por fim, agradeço a todos aqueles que em algum momento ofereceram alguma contribuição para o encerramento dessa caminhada.

RESUMO

MOUTA, Andressa Nunes. **Perfil farmacocinético do tramadol e O-desmetiltramadol após administração intravenosa em jumentos (*Equus asinus*)**. 2019. 51 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró – RN, Brasil, 2019.

Os jumentos são animais rústicos que rapidamente se adaptam às condições adversas e ao intenso trabalho à tração, estando constantemente expostos a condições clínicas dolorosas e, por isso é de suma importância tratá-la adequadamente, por meio do uso de analgésicos apropriados. O tramadol é um analgésico opioide de ação central amplamente utilizado para tratamento da dor aguda e crônica em humanos e animais. Sua metabolização hepática resulta em diversos metabólitos, sendo o principal destes o metabólito ativo O-desmetiltramadol (M1), pois apresenta maior afinidade pelos receptores opioides. O objetivo do presente estudo foi descrever a farmacocinética do tramadol e do M1, após a administração intravenosa única de duas doses distintas em jumentos. Foram utilizados 8 asininos adultos, hígidos, machos e inteiros. Os 8 animais receberam a dose de 2 mg.kg⁻¹ (T2) e 4 mg.kg⁻¹ (T4) de tramadol, com intervalo de 15 dias entre os tratamentos. Foram coletados 10 ml de sangue da veia jugular para obtenção do plasma, realizados nos momentos 0 (antes da administração do fármaco) e seguindo os tempos: 5, 10, 20, 30, 40, 50 minutos, 1h, 1:15h, 1:30h, 1:45h, 2h, 2:30h, 3h, 4h, 6h, 8h, 12h, 24h e 48h. As amostras foram acondicionadas a -80°C para posterior análise farmacocinética por meio de cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada a um detector de espectrometria de massas (CLUE-MS/MS), utilizando um modelo não compartimental. O tramadol e o M1 foram mensurados até 48 horas e quantificados até 12 horas após a administração. Os efeitos adversos decorrentes da administração do fármaco foram observados. A dose de 4 mg.kg⁻¹ apresentou aumento significativo do tempo residual médio (TRM_{0→∞}) e tempo de meia vida (t_{1/2}) para o metabólito. Para o tramadol, a concentração plasmática máxima média (C_{máx}), o t_{1/2} e TMR_{0→∞} para 2 mg.kg⁻¹ foram de 473,62ng/ml, 4,49h e 1,44 h, enquanto na dose 4mg.kg⁻¹ foram de 7553,93 ng/ml 5,99 h e 2,27 h. Para o M1, a C_{máx}, t_{1/2}, T_{máx} e TRM_{0→∞} para a menor dose foram de 90,37 ng/ml, 2,50 h, 0,94 h e 3,88 h, enquanto para a maior dose foram de 109,62 ng/ml, 6,95h, 1,19 h e 7,42 h. Na menor dose, um animal apresentou ataxia e espasmos musculares, enquanto na maior dose, sete animais apresentaram esses efeitos. O tramadol e o M1 atingiram concentrações plasmáticas consideradas efetivas para analgesia. Sugere-se intervalo de administração de aproximadamente 2,5 e 6,9 horas para as doses de 2 e 4 mg.kg⁻¹ respectivamente. Para evitar a

ocorrência de efeitos adversos, é necessário administrar o fármaco em um tempo mais prolongado.

Palavras-chave: Equídeos; M1; farmacocinética; analgesia; Jumentos Nordestinos.

ABSTRACT

MOUTA, Andressa Nunes. **Pharmacokinetic profile of tramadol and O-desmethyltramadol following intravenous administration in donkeys (*Equus asinus*)**. 2019. 51 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró – RN, Brasil, 2019.

Donkeys are rustic animals that quickly adapt to adverse conditions and intense traction work, and are constantly exposed to painful clinical conditions, so it is of paramount importance to treat them adequately through the use of appropriate analgesics. Tramadol is a centrally acting opioid analgesic widely used to treat acute and chronic pain in humans and animals. Its hepatic metabolization results in several metabolites, the main one being the active metabolite O-desmethyltramadol (M1), since it has higher affinity for opioid receptors. The aim of the present study was to describe the pharmacokinetics of tramadol and M1 following single intravenous administration of two distinct doses in donkeys. Ten adult, healthy, male and whole donkeys were used. In group T2, 8 animals received the 2 mg.kg⁻¹ dose of tramadol and in group T4, the same 8 animals received the dose of 4 mg.kg⁻¹, with an interval of 15 days between treatments. 10 ml of jugular vein blood were collected to obtain plasma and the samples were conditioned at -80 ° C for further pharmacokinetic analysis by ultra-efficient liquid chromatography coupled with a mass spectrometry detector (UPLC-MS/MS) using a non-compartmental model. Blood collection was performed at time 0 (prior to drug administration) and following the times: 5, 10, 20, 30, 40, 50 minutes, 1h, 1: 15h, 1: 30h, 1: 45h, 2h, 2:30 h, 3h, 4h, 6h, 8h, 12h, 24h and 48h. Adverse effects from drug administration were also observed. Tramadol and M1 were measured up to 48 hours and quantified up to 12 hours after administration. The 4 mg.kg⁻¹ dose showed a significant increase in mean residual time ($MRT_{0 \rightarrow \infty}$) and time half-life elimination ($t_{1/2}$) for the metabolite. For tramadol, the mean maximum plasma concentration (C_{max}), $t_{1/2}$ and $MRT_{0 \rightarrow \infty}$ for 2 mg.kg⁻¹ were 473,62ng/ml, 4,49h e 1,44 h, while at 4mg dose. kg⁻¹ were 7553,93 ng/ml 5,99 h e 2,27 h. For M1, C_{max} , $t_{1/2}$, T_{max} and $MRT_{0 \rightarrow \infty}$ for the lowest dose were 90,37 ng/ml, 2,50 h, 0,94 h e 3,88 h, while for the highest dose they were 109,62 ng/ml, 6,95h, 1,19 h e 7,42 h. At the lower dose, one animal presented ataxia and muscle spasms, while at the higher dose, seven animals presented these effects. Tramadol and M1 reached plasma concentrations considered effective for analgesia. Dosing intervals of approximately 2.5 and 6.9 hours are suggested for the 2 and

4 mg/kg⁻¹ doses respectively. A longer tramadol administration time is required to avoid adverse effects.

Keywords: Equines; M1; pharmacokinetics; analgesia; Northeast donkeys.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Concentração média do tramadol nas doses de 2 e 4 mg.kg⁻¹ administradas por via intravenosa em jumentos em relação ao tempo transcorrido.....36

Figura 2. Concentração média do metabólito M1 nas doses de 2 e 4 mg.kg⁻¹ administradas por via intravenosa em jumentos em relação ao tempo transcorrido.37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Parâmetros farmacocinéticos do tramadol, média (mediana) $\pm$ erro padrão, nas doses de 2 e 4 mg.kg⁻¹ após administração intravenosa em asininos. 38

Tabela 2. Parâmetros farmacocinéticos do metabólito M1, média (mediana) $\pm$ erro padrão, nas doses de 2 e 4 mg.kg⁻¹ após administração intravenosa em asininos. 39

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ASC $_{0 \rightarrow t}$	Área sob a curva do tempo zero até a última mensuração
ASC $_{0 \rightarrow \infty}$	Área sob a curva do tempo zero até o infinito
C_{máx}	Concentração plasmática máxima
Cl	Depuração
CYP450	Citocromo P-450
IV	Intravenoso
M1	O-desmetiltramadol
M2	N-desmetiltramadol
M5	N,O-desmetiltramadol
t_{1/2}	Tempo de meia vida de eliminação
T_{máx}	Tempo para atingir a concentração máxima
TRM $_{0 \rightarrow \infty}$	Tempo residual médio do momento zero até o infinito
V_{ss}	Volume de distribuição

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVOS	17
2.1. OBJETIVO GERAL	17
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	18
3.1. ASININOS.....	18
3.2. DOR	20
3.3. OPIOIDES.....	22
3.3.1. TRAMADOL.....	23
3.4. FARMACOCINÉTICA E ESTUDOS COM TRAMADOL	25
4. ARTIGO: PERFIL FARMACOCINÉTICO DO TRAMADOL E O- DESMETILTRAMADOL APÓS ADMINISTRAÇÃO INTRAVENOSA EM JUMENTOS (<i>EQUUS ASINUS</i>)	28
4.1. RESUMO.....	29
4.2. INTRODUÇÃO	31
5. MATERIAL E MÉTODOS	32
6. RESULTADOS	35
7. DISCUSSÃO	40
8. CONCLUSÃO.....	45
REFERÊNCIAS	46

1. INTRODUÇÃO

Os asininos são animais rústicos, utilizados para transporte de cargas, materiais e pessoas principalmente nos países em desenvolvimento, convivendo com o homem desde tempos remotos. Por desenvolverem tais atividades, estão constantemente expostos às condições ambientais adversas, culminando em situações clínicas dolorosas que necessitam ser tratadas (ALI et al., 2014; BURDEN; THIEMANN, 2015). A identificação da dor representa um desafio nesses animais, pois não a expressam de modo claro devido ao seu comportamento estóico. Diante disso, os estudos clínicos utilizam diferenças endócrinas e comportamentais para identificação da dor para que assim o animal possa ser tratado, evitando que os mesmos sejam afetados pelos sinais deletérios da dor (DE GRAUW; VAN LOON, 2016; REGAN et al., 2014).

Para tratamento da dor, existem diversas classes de fármacos que podem ser utilizadas isoladamente ou em associação, dentre estas os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), alfa₂-agonistas, anestésicos locais, antagonistas dos receptores N-metil-D-aspartato (NMDA), dipirona e os opioides (MAMA; HECTOR, 2019). O uso de opioides em equinos por muito tempo foi bastante controverso, devido aos potenciais riscos de efeitos adversos, principalmente relacionados ao trato gastrointestinal e excitação (SCHAUVLIEGE, 2014). No entanto, após estudos descobriu-se que, em doses baixas, esses efeitos não apresentam relevância clínica para a espécie (SANCHEZ; ROBERTSON, 2014).

O tramadol é um analgésico opioide amplamente utilizado para tratamento da dor em humanos e animais (ABBIATI et al., 2017). É considerado um opioide atípico, por promover analgesia decorrente de atuação em receptores μ , além de apresentar ação monoaminérgica de inibição da recaptação de noradrenalina e serotonina (BRAVO; MICO; BERROCOSO, 2017). Sua metabolização envolve as enzimas do citocromo P-450 (CYP450), CYP2D6 e CYP3A4, que após o processo de desmetilação produz metabólitos importantes, sendo o principal destes o O-desmetiltramadol (M1), que é seu metabólito ativo (MIOTTO et al., 2017).

Estudos farmacocinéticos com tramadol foram descritos nas diferentes espécies de animais domésticos, incluindo cães (GIORGI et al., 2010), gatos (CAGNARDI et al., 2011), cavalos (GIORGI et al., 2007; SHILO et al., 2008; STEWART et al., 2011; KNYCH et al., 2013; CAGNARDI et al., 2014), ovinos (BORTOLAMI et al., 2015) e

asininos (GIORGI et al., 2009), apresentando diferenças com relação aos metabólitos mais encontrados e concentrações plasmáticas, além de diferenças nos parâmetros farmacocinéticos e efeitos adversos observados, envolvendo principalmente espasmos musculares e ataxia quando da administração rápida. Em asininos, apenas um estudo foi descrito e, embora M1 seja o principal metabólito responsável por promover a analgesia, o mesmo não foi quantificado no trabalho em asininos.

Sabe-se que os jumentos apresentam características farmacológicas, comportamentais e fisiológicas que os diferem dos equinos (MATTHEWS; VAN LOON, 2019). Com isso, a administração de fármacos nessa espécie deve ser realizada com cautela, pois normalmente é realizada a extrapolação de doses recomendadas para equinos e as características farmacocinéticas e farmacodinâmicas irão diferir entre as duas espécies, podendo acarretar em efeitos indesejáveis nesses animais; por isso a importância de estudar doses dos fármacos para esta espécie animal (MENDOZA; PEREZ-ECIJA, ALEJANDRO TORIBIO, 2019).

Em virtude do que foi exposto, o presente estudo tem como objetivo traçar o perfil farmacocinético do tramadol e de seu metabólito ativo M1 em asininos, administrado na dose de 2 e 4 mg.kg⁻¹, em dose única, por via intravenosa, além de avaliar os efeitos adversos observados.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar a farmacocinética do tramadol e de seu metabólito ativo O-desmetiltramadol (M1), administrados nas doses de 2 e 4 mg.kg⁻¹ por via intravenosa em asininos, em uma única administração.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Validar metodologia analítica e bioanalítica para determinação do tramadol e seu metabólito M1;

Definir intervalo de doses adequado para a espécie;

Estabelecer os principais efeitos adversos observados em asininos após administração intravenosa de 2 e 4 mg.kg⁻¹ de tramadol;

Determinar os parâmetros farmacocinéticos do tramadol e de seu metabólito.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. ASININOS

Estima-se que no Brasil existam cerca de oito milhões de cabeças de equídeos, dentre estes, equinos, muares e asininos. No último censo realizado, o rebanho de asininos no Brasil ultrapassou 900.000 animais e cerca de 90% estão situados no Nordeste (IBGE, 2013). Os asininos são utilizados para transporte de água, comida, suprimentos de emergência, materiais e pessoas, desempenhando importante papel social e econômico em vários países em desenvolvimento (ALI et al., 2014). São animais evolutivamente mais resistentes às condições climáticas de regiões semi-áridas, pois seus ancestrais viviam em locais desérticos e montanhosos, onde água e alimentos eram escassos, fato que os tornou animais rústicos, com maior força de trabalho e resistência às condições ambientais adversas (BURDEN; THIEMANN, 2015; MARQUES; NETO; CARVALHO, 2013).

O asinino foi domesticado há mais de 5000 anos e as populações domésticas se originaram de animais provavelmente do nordeste africano. Os jumentos foram trazidos para a América do Sul no século XV de fontes espanholas e do norte da África (BROSNAHAN, 2019). Sua domesticação provavelmente relacionou-se à sua natureza dócil, embora sejam animais que apresentam comportamento de imobilidade ou luta quando confrontados, diferente dos cavalos, que normalmente utilizam a fuga como mecanismo de defesa; além desta, muitas outras diferenças são apresentadas entre esses dois animais que muitas vezes não são reconhecidas pelos profissionais médicos veterinários, podendo culminar em erros de diagnóstico (MCLEAN; GONZÁLEZ; CANISSO, 2019).

Observa-se frequentemente que os asininos não recebem os mesmos cuidados de saúde e atenção que os cavalos, sendo considerados para muitos como um animal sem função específica, uma vez que com a ascensão da industrialização e mecanização no último século, foram substituídos por máquinas (BARRIO; RICKARDS; THIEMANN, 2019). Entretanto, suas funções podem ir muito além de animal de tração, como em alguns países, onde o consumo de leite é apreciado, por apresentar composição similar a do ser humano, com baixo teor de gordura e elevados ácidos graxos poliinsaturados, que são benéficos à saúde humana, além de apresentarem propriedades que auxiliam o sistema imune e previnem doenças como a aterosclerose (ALI et al., 2014; PILLA et al., 2010); ou

mesmo são utilizados como auxílio na reabilitação psicoafetiva de crianças, pois apresentam porte e temperamento que facilitam seu manejo, de modo que através de sua expressão corporal e ligação afetiva, atuam na terapia de apoio (DE ROSE; CANNAS; CANTIELLO, 2011).

Embora geralmente sejam considerados como cavalos pequenos, os asininos apresentam importantes particularidades que envolvem diferenças no número de cromossomos; diferenças anatômicas no que diz respeito à musculatura e quantidade de vértebras; comportamentais, principalmente relacionadas com resposta às condições dolorosas; farmacológicas e fisiológicas, principalmente ligadas à velocidade de metabolização de alguns fármacos, características que muito os diferem dos equinos (BURNHAM, 2002; MATTHEWS; VAN LOON, 2019).

Esses animais apresentam maior teor de água em seu organismo, além de metabolização de alguns fármacos mais rápida do que os equinos, principalmente os que são relacionados ao CYP450, o que implica em diferenças farmacocinéticas que podem alterar não só a ação dos fármacos como também o intervalo de doses quando realiza-se extrapolação de doses preconizadas para equinos. Com isso, diferenças não somente atribuídas às variações entre as duas espécies, como também às raças e a própria variação de cada indivíduo devem ser levadas em consideração (LIZARRAGA; SUMANO; BRUMBAUGH, 2004).

O segmento final do intestino desses animais tem função de reservatório de água, fato que pode explicar algumas diferenças na distribuição e disponibilidade de alguns fármacos (GROSENBAUGH; REINEMEYER; FIGUEIREDO, 2011). Ao administrar fármacos nesses animais e realizar extrapolação de doses interespecie, deve-se ter cautela, pois há chances de não atingir níveis plasmáticos suficientes ou até mesmo efeitos adversos e intoxicação (MENDOZA; PEREZ-ECIJA, ALEJANDRO TORIBIO, 2019).

Por desempenharem papel de animal de tração nas estradas, estão constantemente expostos a desenvolver doenças agudas e crônicas que podem culminar em processos dolorosos, como distúrbios musculoesqueléticos, feridas, mutilações, infecções oculares, anormalidades dentárias entre outros distúrbios (REGAN et al., 2016). A resposta à dor nesses animais difere dos equinos e por muito tempo considerou-se que esses animais são capazes de tolerá-la melhor que os equinos, devido sua rusticidade (TAYLOR; MATTHEWS, 1998).

Estudos recentes sugerem que os mesmos conseguem disfarçá-la melhor, devido seu comportamento estoico, além do fato de evolutivamente apresentarem esse comportamento

como forma de defesa contra predadores, o que reafirma a necessidade de os profissionais saberem reconhecer o comportamento normal para distinguir o anormal, com intuito de diferenciar sinais indicativos de dor (MCLEAN; GONZÁLEZ; CANISSO, 2019). Embora existam estudos com uso de analgésicos em jumentos (MARZOK; EL-KHODERY, 2015), ainda há escassez de trabalhos que relatem o uso desses agentes na rotina clínica, de modo que grande parte do conhecimento a respeito desses animais é proveniente da experiência clínica do cotidiano e não de pesquisas científicas (MATTHEWS; VAN LOON, 2019).

3.2. DOR

Conceituada pela primeira vez em 1986, pela Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP), a dor é considerada uma experiência sensorial e emocional desagradável, associada a dano tecidual real ou potencial (DE GRAUW; VAN LOON, 2016). Quando se define dor para os animais, entende-se que seja uma experiência aversiva, relacionada à conscientização do animal a respeito de danos aos seus tecidos envolvendo fatores emocionais e principalmente comportamentais, com intuito de reduzir ou evitar mais danos e promover a recuperação. Foi considerada pela Sociedade Americana da Dor, em 1996, como o quinto sinal vital (VAN LOON; VAN DIERENDONCK, 2018).

A dor pode ter caráter agudo, quando surge de forma repentina, com duração limitada e relacionada à lesão real, ou pode ser crônica, quando se estende além da duração considerada normal, podendo ser prejudicial ao bem-estar animal (BELL, 2018). Sendo assim, de início a dor tem caráter agudo, fisiológico e protetor, com intuito de manter a integridade dos tecidos; quando não tratada adequadamente, pode tornar-se crônica, com caráter fisiopatológico, que ocasiona estresse e dificuldade de reparação, contribuindo para morbidade e mortalidade dos pacientes (BARAKAT, 2019).

A dor pode apresentar caráter nociceptivo, quando ocorre uma lesão tecidual e neuropática, quando ocorre uma lesão nervosa (SUBEDI et al., 2019). Esta última engloba uma grande variedade de etiologias, incluindo neuropatias periféricas, traumáticas ou mesmo lesão medular, sendo considerada de difícil tratamento, utilizando para isso uma gama de associações de classes farmacológicas que atuam com mecanismos de ação diferentes (ATTAL, 2019).

A fisiologia da dor se caracteriza pelas fases de transdução, transmissão, modulação e percepção. Durante um processo doloroso, inicialmente ocorre a transdução, que consiste na ativação de nociceptores (terminações nervosas livres), que são encontradas na pele, vasos sanguíneos e fibras do músculo esquelético e transformam os estímulos ambientais em potenciais de ação. Em seguida, esses impulsos elétricos são transmitidos para a medula espinhal através dos neurônios aferentes primários e a velocidade da transmissão depende do tamanho a fibra, de modo que as fibras mielínicas A-δ são de grande diâmetro e as do tipo C menor diâmetro. Os corpos celulares dessas duas fibras se encontraram nas raízes dorsais da medula espinhal. No corno dorsal da medula espinhal ocorre a modulação, que pode suprimir ou mesmo ampliar a resposta sensorial, sendo posteriormente processados e reconhecidos em áreas específicas do cérebro (BELL, 2018; FANTONI; MASTROCINQUE, 2010)(BELL, 2018; FANTONI; MASTROCINQUE, 2010).

Os seres humanos apresentam a capacidade de expor verbalmente a dor, o que se configura uma vantagem em relação aos animais, uma vez que os mesmos só conseguem expressá-la diante de comportamentos, tornando a detecção e quantificação da mesma nesses seres uma tarefa difícil de ser realizada (GLEERUP; LINDEGAARD, 2016). A identificação e mensuração da dor em equídeos representa um desafio particular em relação aos outros animais, pois esta espécie evoluiu para não expressar dor claramente, com o intuito de evitar a predação (TAYLOR; PASCOE; MAMA, 2002). Dessa forma, os estudos clínicos geralmente utilizam diferenças endócrinas e também comportamentais para detecção das condições clínicas dolorosas nesses animais (DE GRAUW; VAN LOON, 2016).

Sabe-se que os asininos são animais que apresentam maior rusticidade do que os equinos, de modo que não demonstram com clareza quando estão com dor, podendo muitas vezes passar por despercebida, o que pode acarretar em sérias consequências que irão alterar suas funções metabólicas, endócrinas e imunológicas, por isso a importância de realizar analgesia nesses animais (MENDOZA; PEREZ-ECIJA, ALEJANDRO TORIBIO, 2019). Por ser uma espécie ainda pouco estudada e devido à dificuldade de identificação da dor, estudiosos despertam cada vez mais o interesse em criação de etogramas e escalas de dor com intuito de identificá-la nessa espécie, por meio da avaliação contínua de comportamentos que sejam sugestivos de dor durante um determinado período, auxiliando na identificação da mesma e permitindo tratá-la (MATTHEWS; VAN LOON, 2019; REGAN et al., 2016).

Para tratamento da dor em equídeos, existem diversas classes de fármacos que são utilizadas isoladamente ou em associação (MAMA; HECTOR, 2019). Os opioides são os fármacos mais rotineiramente prescritos na rotina médica, para tratamento da dor, seja moderada a intensa, aguda ou crônica (THIGPEN; ODLE; HARIRFOROOSH, 2019). O uso de opioides em asininos ainda é uma realidade pouco comum na rotina médica veterinária.

3.3. OPIOIDES

Os opioides são fármacos que se ligam a receptores específicos encontrados tanto no sistema nervoso central como na medula espinal, modificando a nocicepção e a percepção da dor, ocasionando analgesia. Diferentes tipos de receptores opioides foram identificados, sendo esses o mu (μ), o kappa (k), o delta (δ) e o sigma (σ) (TRESCOT et al., 2008).

Os receptores μ estão presentes no tronco cerebral e tálamo medial, sendo responsáveis por ocasionar analgesia supraespinal, depressão respiratória, euforia, sedação e redução da motilidade gastrointestinal. Os receptores μ apresentam efeitos mais potentes de antinocicepção, entretanto, são mais relacionados com dependência e efeitos adversos. Os efeitos dos fármacos opioides são dependentes de sua ligação ao tipo de receptor no qual o mesmo se liga (FANTONI; MASTROCINQUE, 2010; GOZALO-MARCILLA; GASTHUYS; SCHAUVLIEGE, 2015).

Os receptores k são encontrados no tronco cerebral e medula espinal, responsáveis pela analgesia espinal, sedação, dispneia, disforia e depressão respiratória. Enquanto que os receptores δ são encontrados no cérebro e estão relacionados a efeitos disfóricos (OBENG; HAMADEH; SMITH, 2017). Os mesmos são parte de um grupo de receptores ligados à membrana celular, acoplados à proteína G. A ligação ao receptor inibe a adenil ciclase, ativa íons potássio e suprime os íons cálcio voltagem-dependentes (TRESCOT et al., 2008).

Os analgésicos opioides geralmente são seguros, no entanto, podem produzir efeitos adversos como depressão respiratória, sedação e alterações na motilidade do trato gastrointestinal (GOZALO-MARCILLA; GASTHUYS; SCHAUVLIEGE, 2015). O uso desses agentes em equinos foi controverso e limitou seu uso em muitos procedimentos no passado, devido aos riscos relacionados à redução da motilidade intestinal (SCHAUVLIEGE, 2014).

Os sinais de excitação são efeitos adversos bastante conhecidos dessa classe, entretanto em doses baixas são considerados irrelevantes clinicamente, embora possam ocorrer. Dessa forma, seu uso é indicado, pois os benefícios que essa classe proporcionam superam os riscos associados a esses agentes (VIGANI; GARCIA-PEREIRA, 2014). Embora existam inúmeras pesquisas com uso desses agentes em cavalos, ainda existe pouca informação sobre o uso de opioides em jumentos, de modo que normalmente quando administrados, são associados as alfa₂-agonistas devido ao sinergismo entre essas duas classes (GROSENBAUGH; REINEMEYER; FIGUEIREDO, 2011; MATTHEWS; VAN LOON, 2013).

Os opioides são metabolizados no fígado, envolvendo enzimas de reações de fase I e fase II. A maior parte das enzimas de fase I que estão envolvidas no metabolismo dos opioides são da família do CYP450, resultando em metabólitos ativos ou inativos, com metabólitos ativos possuindo atividade mais potente que o próprio fármaco. Os genes que codificam essas enzimas podem apresentar variação, o que implica em diferenças na disposição farmacocinética entre indivíduos (OBENG; HAMADEH; SMITH, 2017). O CYP450 contém enzimas que estão envolvidas no metabolismo de muitas toxinas, hormônios e produtos farmacêuticos. A CYP2D6 é responsável pelo metabolismo de quase 25% dos fármacos e sua atividade metabólica exibe muita variação entre indivíduos, podendo ser atribuído a polimorfismos genéticos (CORADO et al., 2016).

3.3.1. TRAMADOL

O tramadol foi sintetizado pela primeira vez em 1962 e depois disponibilizado para tratamento da dor, no ano de 1977, sendo um opioide atípico, que apresenta eficácia analgésica decorrente de sua atividade em receptores opioides μ e também de sua ação monoaminérgica, promovendo liberação de serotonina e inibição da recaptação de noradrenalina, aumentando assim os efeitos inibitórios na transmissão da dor na medula espinhal (VADIVELU et al., 2017).

Embora apresente menor afinidade pelos receptores μ , se comparado à morfina, seu uso é considerado para tratamento de dor moderada a intensa, devido ao esse complexo mecanismo que atua sinergicamente inibindo a dor nas vias descendentes no sistema nervoso central, resultando na modulação de neurônios na medula espinal (BRAVO; MICO; BERROCOSO, 2017; HASSAMAL et al., 2018). O fármaco é composto por uma

mistura racêmica de enantiômeros que apresentam efeito analgésico sinérgico. O enantiômero (+) do tramadol atua como agonista dos receptores μ e promove a inibição da recaptação da serotonina, enquanto o enantiômero (-) inibe a recaptação da noradrenalina (SUBEDI et al., 2019).

O tramadol se diferencia dos demais opioides por promover poucas alterações cardiorrespiratórias, no trato gastrointestinal ou sedação, por isso é indicado não só para tratamento da dor aguda como também para dor crônica, podendo ser usado de forma contínua (GIORGI, 2012). Em humanos, esse fármaco encontra-se como um dos agentes utilizados para tratamento de dor neuropática, pois apresenta menor risco de abuso que os demais opioides fortes (ATTAL, 2019).

Seu uso clínico na rotina de equinos começou após relato por via epidural, realizado por Natalini e Robinson (2000), além de também usado em estudos farmacocinéticos (ABBIATI et al., 2017; NATALINI; ROBINSON, 2000). Sua segurança, eficácia analgésica e menor incidência de efeitos adversos contribuem para o tramadol ser frequentemente prescritos para os animais, principalmente quando os AINEs estiverem contraindicados, uma vez que esta última classe apresenta efeitos adversos importantes no trato gastrointestinal (GIORGI, 2012).

Por apresentar essa ação na inibição da recaptação das monoaminas, riscos adicionais associados ao tramadol incluem taquicardia, hipertensão, convulsões ou mesmo a síndrome serotoninérgica (HASSAMAL et al., 2018). Essa síndrome pode ocorrer com o uso isolado de tramadol, mas normalmente está relacionada à doses elevadas, uso excessivo do fármaco ou administração em conjunto com fármacos que também inibam a recaptação de serotonina (VADIVELU et al., 2017).

Em relação à sua metabolização, estão envolvidos nesse processo enzimas hepáticas do CYP450, CYP3A e CYP2D6, que convertem o tramadol em vários metabólitos, sendo a CYP2D6 a responsável por produzir o principal destes, o O-desmetiltramadol (M1), que é o metabólito ativo e apresenta mais de 300 vezes a afinidade do composto original pelos receptores opioides (HAAGE et al., 2018). Cerca de 80% do tramadol é metabolizado pela CYP2D6, uma enzima que rapidamente pode apresentar-se saturada, pois possui baixa capacidade e alta afinidade, que representa até 5% do conteúdo de CYP no fígado em humanos (MIOTTO et al., 2017).

Outras enzimas (CYP2B6 e CYP3A4) são responsáveis pela metabolização do N-desmetiltramadol (M2), um metabólito inativo. O M1 e M2 são subsequentemente metabolizados nos metabólitos N-didesmetiltramadol(M3), N, N, O-tridesmetiltramadol

(M4) e N, O-didesmetiltramadol (M5), em reações de fase II e são inativados pela adição de sulfato e ácido glucurônico, e posteriormente excretados (BRAVO; MICO; BERROCOSO, 2017). Alguns estudos afirmam que o metabólito M5 também apresenta importante contribuição para os efeitos analgésicos em algumas espécies, juntamente com o M1, embora a relevância clínica dessa informação ainda seja desconhecida em animais de companhia (RUEL; STEAGALL, 2019).

Existem diferenças entre espécies no metabolismo do tramadol em relação aos genes e subfamílias do CYP450. Em humanos, a biotransformação do tramadol em M1 é mediada pelo CYP2D6, contudo sabe-se que esta enzima pode apresentar diferenças nos genes responsáveis em cada indivíduo, de modo que o metabolismo do tramadol pode ser diferente entre indivíduos, pois alguns conseguem ser metabolizadores fracos, intermediários ou mesmo conseguem ter uma maior eficiência (KELLY; PYPENDOP; CHRISTE, 2015). Essas variações nas enzimas podem afetar o acúmulo de metabólitos, contribuindo para diferenças na eficácia e nos efeitos adversos desse fármaco, podendo até mesmo não exercer os efeitos analgésicos esperados (HASSAMAL et al., 2018; OBENG; HAMADEH; SMITH, 2017).

A excreção de tramadol ocorre quase exclusivamente por via renal, de modo que cerca de 90% do fármaco é excretado na urina, com apenas atividade residual recuperada nas fezes. Além disso, 10 a 30% do fármaco é excretado não metabolizado, enquanto 60% é excretada como um metabólito (GROND; SABLOSTZKI, 2004).

3.4. FARMACOCINÉTICA E ESTUDOS COM TRAMADOL

A farmacocinética define-se como o estudo da cinética dos fármacos no organismo animal, após a sua administração, enquanto que a farmacodinâmica estuda a relação entre o fármaco em seu local de ação. De modo simples, enquanto a farmacocinética descreve o que o corpo faz com o composto, a farmacodinâmica descreve o que o composto faz para o corpo. Ambas auxiliam na investigação dos perfis de disposição e eficácia farmacológica, entretanto, podem ser influenciados por condições experimentais e clínicas (FAN; DE LANNOY, 2014).

A farmacocinética tem objetivo de avaliar as fases de absorção, distribuição, biotransformação e eliminação dos fármacos no organismo animal. Essas fases estão

principalmente relacionadas à administração, biodisponibilidade, clearance e distribuição dos fármacos (URSO; BLARDI; GIORGI, 2002).

A biodisponibilidade está relacionada a fração do fármaco administrado que atinge a circulação sistêmica e tem ligação direta com a sua administração, uma vez que quando um fármaco é administrado por via intravenosa, entende-se que é totalmente disponível na circulação sanguínea. O clearance envolvem os processos de metabolismo e excreção do fármaco, enquanto a distribuição descreve o percurso do fármaco pelos tecidos (DOOGUE; POLASEK, 2013).

Mensurar a concentração de fármacos no sangue ou outros fluidos corporais em momentos contínuos e diferentes após a administração de um fármaco demonstra muitas informações valiosas, como em estudos com animais de laboratório, que podem fornecer indicações úteis para pesquisa e desenvolvimento em humanos ou mesmo para outras espécies animais (URSO; BLARDI; GIORGI, 2002).

Além da mensuração de sua concentração, outros parâmetros farmacocinéticos podem ser avaliados, com intuito de avaliar a farmacocinética. Quando se refere à biodisponibilidade, a concentração plasmática máxima ($C_{m\acute{a}x}$), o tempo para atingir a concentração plasmática máxima ($T_{m\acute{a}x}$) e a área sob a curva (ASC) auxiliam na avaliação desta fase, com intuito de mensurar o tempo de exposição do fármaco no organismo e a concentração que o mesmo atinge após administração (GROSENBAUGH; REINEMEYER; FIGUEIREDO, 2011). Além destes parâmetros, o volume de distribuição e o tempo de meia vida de eliminação também podem ser mensurados; este último refere-se ao decaimento da concentração plasmática do fármaco até atingir metade de sua concentração plasmática (URSO; BLARDI; GIORGI, 2002).

Estudos farmacocinéticos com tramadol estão sendo amplamente desenvolvidos nas diferentes espécies animais, utilizando diferentes vias de administração por meio de coleta sanguínea seriada e buscando mensurar seus metabólitos. As diferenças encontradas se referem principalmente à quantificação e mensuração de metabólitos, além de concentrações plasmáticas e tempo de meia vida de eliminação que diferem entre si (GIORGI et al., 2010), (SHILO et al., 2008); (GIORGI et al., 2007); (STEWART et al., 2011); (KNYCH et al., 2013); (CAGNARDI et al., 2014); (BORTOLAMI et al., 2015) (GIORGI et al., 2009).

Em cavalos, doses variando de 2 mg.kg⁻¹ a 5 mg.kg⁻¹ foram utilizadas para análise farmacocinética, de modo que em sua maioria, o M2 foi o metabólito de maior concentração. Além disso, a descrição de efeitos adversos também foi relatado,

principalmente ao administrá-lo rapidamente. Mesmo em diferentes doses, os animais apresentaram efeitos adversos como tremores musculares, ataxia e agitação, por vezes relacionada à rapidez da administração e dose elevada (STEWART et al., 2011).

Em asininos, apenas Giorgi et al. (2009), realizaram estudo da farmacocinética do tramadol, tanto por via oral como por via intravenosa. A biodisponibilidade por via oral para este fármaco foi bastante limitada. Embora os autores pesquisassem os três metabólitos (M1, M2 e M5), apenas o M2 pôde ser quantificado nas duas rotas de administração. A concentração plasmática máxima pôde ser determinada apenas para o metabólito e não para o tramadol.

Os estudos farmacocinéticos apresentam diversos fatores que justificam diferentes mensurações tanto dos metabólitos como dos parâmetros analisados. Fatores como a diversidade entre as raças, diferenças interespecie e metodologias aplicadas em cada estudo devem ser levados em consideração para comparações dos resultados encontrados.

**4. ARTIGO: PERFIL FARMACOCINÉTICO DO TRAMADOL E O-
DESMETILTRAMADOL APÓS ADMINISTRAÇÃO INTRAVENOSA EM
JUMENTOS (*Equus asinus*)**

Perfil farmacocinético de tramadol e O-desmetiltramadol após administração intravenosa única em jumentos

4.1. RESUMO

Antecedentes: O potencial efeito analgésico do tramadol e ausência de estudos quantificando a concentração de seu metabólito O-desmetiltramadol (M1) nos jumentos.

Objetivos: Descrever a farmacocinética do tramadol e do M1, após a administração intravenosa de duas doses no jumento.

Desenho experimental: Experimental.

Métodos: Oito jumentos adultos receberam tramadol nas doses de 2 e 4 mg.kg⁻¹ por via intravenosa. Foram coletadas amostras de sangue antes da administração do fármaco e em 19 momentos consecutivos, com duração de 48 horas. O plasma foi analisado por cromatografia líquida de ultra eficiência com espectrômetro de massas, usando modelo não compartimental. Os efeitos adversos decorrentes da administração do fármaco foram observados.

Resultados: O tramadol e o M1 foram quantificados até 12 horas após a administração. A dose de 4 mg.kg⁻¹ apresentou aumento significativo do tempo residual médio (TRM_{0→∞}) e tempo de meia vida (t_{1/2}) para o metabólito, enquanto que para o tramadol houve diferença significativa para o tempo de meia vida na mesma dose. Para o tramadol, a concentração plasmática máxima média (C_{máx}), o t_{1/2} e TMR_{0→∞} para 2 mg.kg⁻¹ foram de 4732,62ng/ml, 4,49h e 1,44 h, enquanto na dose 4mg.kg⁻¹ foram de 7553,93 ng/ml 5,99 h e 2,27 h. Para o M1, a C_{máx}, T_{1/2}, T_{máx} e TRM_{0→∞} para a menor dose foram de 90,37 ng/ml 2,50 h, 0,94 h e 3,88 h, enquanto para a maior dose foram de 109,62,45 ng/ml,

6,95h, 1,19 h e 7,42 h. Na menor dose, um animal apresentou ataxia e espasmos musculares, enquanto na maior dose, sete animais apresentaram esses efeitos.

Limitações: Ausência de um estudo clínico associado para avaliar eficácia analgésica.

Conclusão: O tramadol e o M1 atingiram concentrações plasmáticas consideradas efetivas para analgesia. Sugere-se intervalo de administração de aproximadamente 2,5 e 6,9 horas para as doses de 2 e 4 mg/kg⁻¹ respectivamente. É necessário um tempo maior de administração do tramadol para evitar efeitos adversos.

Palavras-chave: Equídeos; M1; farmacocinética; opioide; analgesia; jumentos nordestinos.

4.2. INTRODUÇÃO

O tramadol é um analgésico opioide de ação central amplamente utilizado para tratamento da dor aguda e crônica em humanos e animais (ABBIATI et al., 2017). Esse fármaco é considerado um opioide atípico, pois promove analgesia decorrente de sua atuação em receptores μ , além de apresentar uma ação monoaminérgica de inibição da recaptação de noradrenalina e serotonina (BRAVO; MICO; BERROCOSO, 2017). Sua metabolização hepática envolve as enzimas do citocromo P-450 (CYP450), CYP2D6 e CYP3A4, que após o processo de desmetilação produz metabólitos importantes, sendo o principal destes o O-desmetiltramadol (M1), que é seu metabólito ativo. O M1 apresenta maior afinidade pelos receptores opioides μ do que o tramadol, logo, a ação analgésica advém principalmente da alta afinidade de seu metabólito ativo nos receptores μ (MIOTTO et al., 2017).

Estudos farmacocinéticos com tramadol foram descritos nas diferentes espécies de animais domésticos, incluindo cães (GIORGI et al., 2010), cavalos (SHILO et al., 2008); (GIORGI et al., 2007); (STEWART et al., 2011); (KNYCH et al., 2013); (CAGNARDI et al., 2014); ovinos (BORTOLAMI et al., 2015) e apenas um estudo em asininos (GIORGI et al., 2009). Embora M1 seja o principal metabólito responsável por promover a analgesia, o mesmo, não foi quantificado no trabalho em asininos.

Os asininos são animais rústicos utilizados como animal de carga para transporte de materiais e pessoas, principalmente nos países em desenvolvimento e estão constantemente expostos às condições ambientais adversas (ALI et al., 2014); (BURDEN; THIEMANN, 2015). Sabe-se que esses animais apresentam características farmacológicas, comportamentais e fisiológicas que os diferem dos equinos (MATTHEWS; VAN LOON, 2019). Com isso, a administração de fármacos deve ser realizada com cautela, pois normalmente é realizada a extrapolação de doses recomendadas para equinos e as

características farmacocinéticas e farmacodinâmicas irão diferir entre as duas espécies, podendo acarretar em efeitos indesejáveis nesses animais (MENDOZA; PEREZ-ECIJA; ALEJANDRO TORIBIO, 2019). Nos estudos realizados em equinos, são observados efeitos adversos envolvendo principalmente espasmos musculares e ataxia. Desta forma, o trabalho teve como objetivo mensurar a concentração plasmática do tramadol e do M1 nas doses intravenosas de 2 e 4 mg.kg⁻¹, bem como, descrever os parâmetros farmacocinéticos nos jumentos com o intuito de sugerir dose e intervalo de administração seguros e efetivos nessa espécie.

5. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da instituição (23091.006896/2019-47). Foram utilizados 8 jumentos nordestinos, machos, inteiros, adultos, pesando 126 ± 11,8 kg (110 - 145 kg), oriundos da Associação de Proteção de Animais (APA) de Apodi-RN. Para inclusão no estudo os animais foram considerados saudáveis após exame clínico e laboratorial (hemograma, ureia, creatinina, aspartato aminotransferase, creatina quinase, gamaglutamiltransferase e proteínas totais).

Um dia antes do procedimento os animais foram transferidos para uma baia individual, onde foram submetidos a jejum sólido e hídrico de 16 e 6 horas respectivamente. Os animais foram submetidos a dois tratamentos com um intervalo de 15 dias. Foi realizado estudo do tipo crossover 10 x 2, em que no tratamento T2, os 8 animais receberam a dose de 2 mg.kg⁻¹ de tramadol (Tramadon) e no T4, os mesmos 8 animais receberam 4 mg.kg⁻¹, todos pela via intravenosa, em administração única.

Para administração intravenosa do tramadol e coleta das amostras de sangue, um cateter de calibre 16G acoplado a uma torneira de 3 vias foi fixado à veia jugular dos animais. A administração do fármaco foi realizada ao longo de 2 minutos.

Foram coletados 10 ml de sangue de todos os animais por período e as amostras foram acondicionadas em tubos com anticoagulante ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), centrifugadas a 3500 rpm, durante 10 minutos para obtenção do plasma, o qual foi armazenado em tubos criogênicos e mantidos na temperatura de -80°C, para posterior análise.

As coletas de sangue foram realizadas nos momentos 0 (antes da administração do fármaco) e seguindo os tempos: 5, 10, 20, 30, 40, 50 minutos, 1h, 1:15h, 1:30h, 1:45h, 2h, 2:30h, 3h, 4h, 6h, 8h, 12h, 24h e 48h.

Os animais foram avaliados quanto à manifestação de efeitos adversos como: ataxia, inquietação, salivação, sudorese e espasmos musculares. Foram avaliadas a ocorrência desses efeitos e sua duração até 8 horas após a administração do fármaco.

A preparação das amostras para realização da cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada a espectrômetro de massas (CLUE-MS/MS). Foram preparadas alíquotas das amostras de plasma (250 uL), sendo adicionadas de 10 uL de solução de metoprolol 0,1mg/mL (padrão interno) e 800 ul de acetonitrila, seguido de homogeneização em vortex por 60 segundos e posteriormente centrifugadas por 5 minutos a 4200 rpm. O sobrenadante (900 ul) foi transferido para vials para posterior injeção no equipamento de cromatografia.

Para realização da análise cromatográfica utilizou-se um sistema CLUE-MS/MS, constituído por Nexera 2 UPLC acoplado a um detector de espectrometria de massa LCMS-8040 (Shimadzu, Japan) e coluna Shimadzu UPLC BEH C18 (1,7 µm, 2,1 × 75 mm) (Shimadzu, Japan). A fase móvel foi acetonitrila e uma solução de ácido fórmico

0,1% (75:25, v/v) a 0,3 mL/min. O tempo de corrida foi de 2,0 min; o volume de amostra injetado foi de 5,0 µL. A temperatura da coluna foi ajustada para 40 °C e o refrigerador do amostrador automático regulado para 5 °C. Para tramadol e M1, o espectrômetro de massa foi ajustado no modo de monitoramento de reações múltiplas (MRM) no modo de ionização positivo ESI. A energia de colisão e a tensão do cone foram 12 e 19 V, respectivamente. A taxa de fluxo do gás cone e dessolvatação calibrada para 150 e 600 L/min, respectivamente, usando argônio como gás de colisão na vazão de 0,15 mL/min. O espectrômetro de massa foi configurado para monitorar a transição da faixa do íon principal e íon filho. Com tempo de permanência de 0,3 s. Dados de MRM foram adquiridos e analisados através do software Labsolution (Shimadzu, Japan).

A relação massa e carga (m/z) dos íons principais foram: tramadol (264,00), M1 (250,00) e metoprolol (268,10); enquanto que a relação para os íons filhos foi de: tramadol (58,00), M1 (58,00) e metoprolol (131,1).

A validação do método analítico foi realizada de acordo com os critérios estabelecidos pelo Conselho Internacional para Harmonização de Requisitos Técnicos para o Registro de Produtos Farmacêuticos para Uso Humano (ICH, 2018). Adicionaram-se soluções padrões ao plasma livre de drogas para obter uma curva de calibração. Da mesma forma, amostras de controle de qualidade (pontos) foram preparadas em baixas, médias e altas concentrações, e estas foram usadas para determinar a recuperação absoluta e precisão intra e inter-dia. A seletividade foi avaliada preparando o limite inferior de quantificação (LLOQ) no plasma livre de drogas. Estabilidade (matriz biológica a -70 °C; temperatura de bancada à temperatura ambiente (20 °C); 3 ciclos de congelamento e descongelamento e amostras processadas no amostrador automático) também foi avaliada. O limite de quantificação inferior e superior para tramadol e M1 foi de 5ng/ml a 5000 ng/mL, respectivamente. As amostras que obtiveram concentrações acima da faixa de trabalho

foram diluídas em plasma branco até que os valores analisados permanecessem dentro da faixa de trabalho utilizada. A concentração dos pontos controles para validação do método analítico para tramadol e M1 foram de: 15, 1000 e 3750 ng/mL.

Os parâmetros farmacocinéticos para o fármaco e seu metabólito foram calculados usando modelo não compartimental com o software Phoenix WinNonlin[®] 6.2.1 (Certara L.P., US) e com o software PKSolver2.0 enquanto as análises estatísticas foram realizadas no software BioStat 5,0. As variáveis observadas foram: a concentração plasmática máxima ($C_{\text{máx}}$), o tempo para atingir a $C_{\text{máx}}$ ($T_{\text{máx}}$), a área sob a curva de concentração plasmática do tempo zero até ao momento da última concentração mensurável ($ASC_{0 \rightarrow t}$) e a extrapolação da ASC até ao infinito ($ASC_{0 \rightarrow \infty}$), volume de distribuição em curso estável (V_{ss}), depuração no plasma (Cl), meia-vida de eliminação ($t_{1/2}$) e o tempo residual médio do momento zero até o infinito ($TRM_{0 \rightarrow \infty}$).

Foi realizado teste de Shapiro-Wilk para verificar a normalidade dos dados e, após atestar distribuição de dados não paramétricos foi aplicado o teste de Mann-Whitney para comparar as medianas dos parâmetros farmacológicos de cada substância entre os tratamentos. O valor de P menor que 0,05 foi considerado como estatisticamente significativo.

6. RESULTADOS

Após o desenvolvimento do método cromatográfico e definição das variáveis analítica, o método desenvolvido foi validado para garantir a veracidade dos dados obtidos. Todas as curvas de calibração apresentaram R^2 superiores a 0,99, demonstrando linearidade entre as respostas do equipamento e as concentrações da curva. O método também apresentou bons parâmetros de seletividade, reprodutibilidade e repetibilidade, com desvio

padrão relativos inferiores a 5%. As amostras foram estáveis nas condições utilizadas para análise.

Após administração intravenosa, tanto o M1 como o tramadol foram analisados e detectados até 48 horas de análise e quantificados até 12 horas. Observa-se que após a administração do fármaco a $C_{m\acute{a}x}$ na dose de 4 mg.kg^{-1} apresentou-se superior à de 2 mg.kg^{-1} tanto para tramadol como para M1 (Figuras 1 e 2).

Figura 1. Concentração plasmática máxima média do tramadol nas doses de 2 e 4 mg.kg^{-1} administradas por via intravenosa em jumentos em relação ao tempo transcorrido.

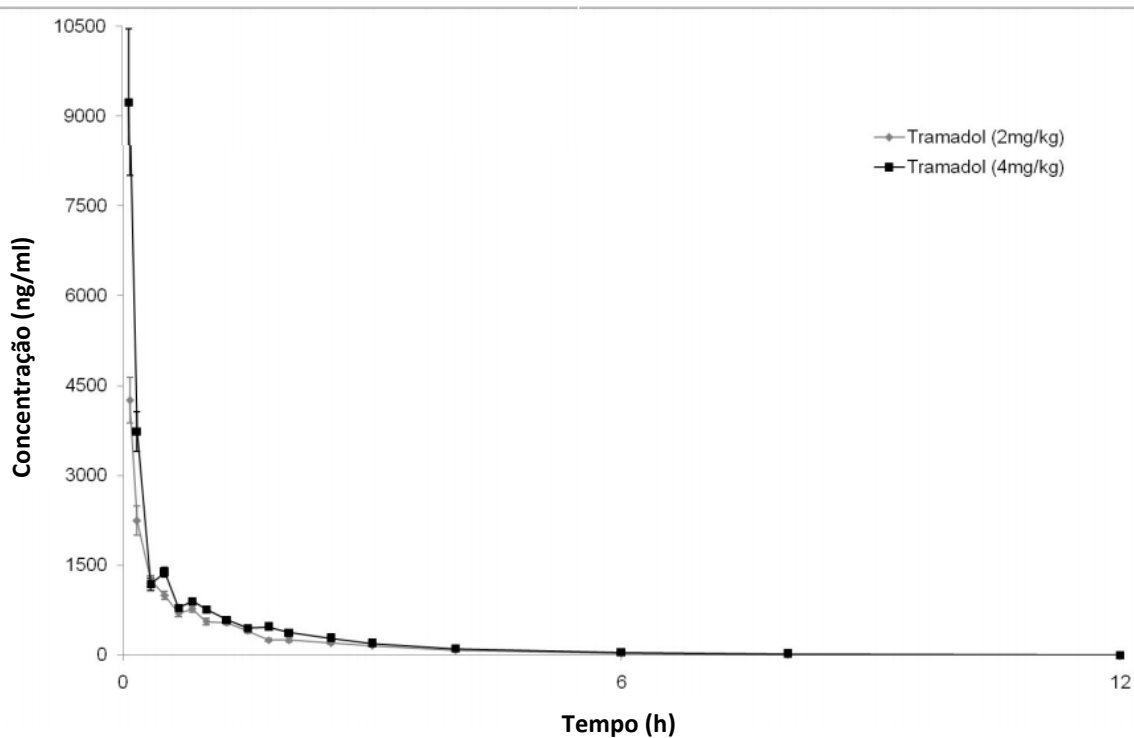
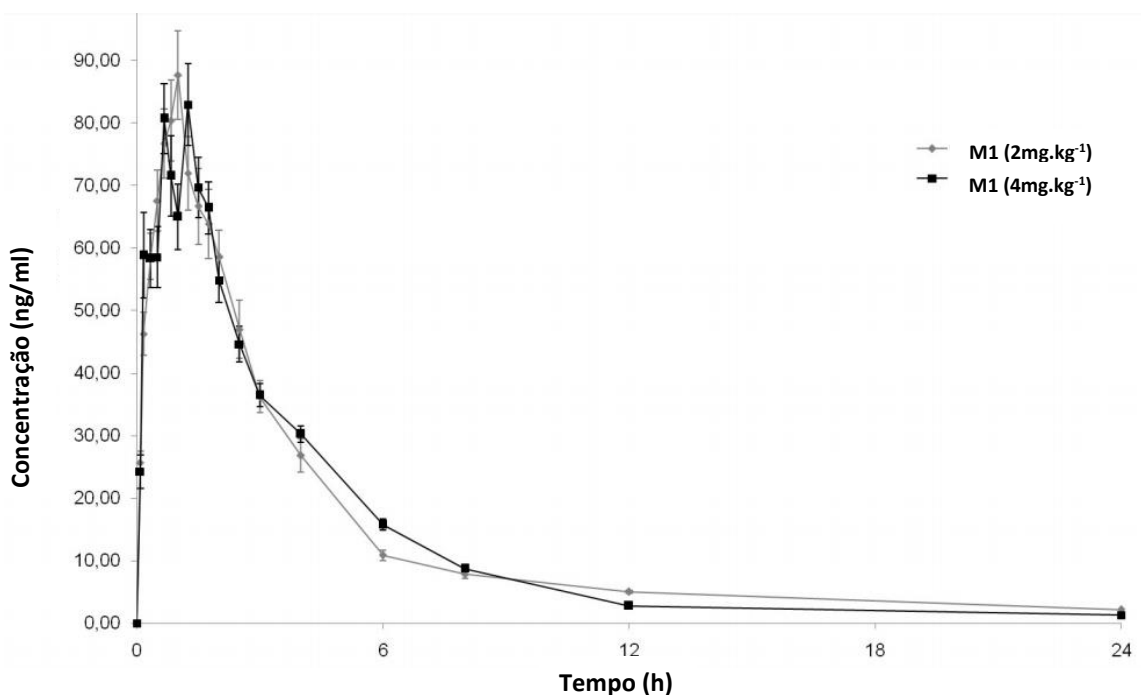


Figura 2. Concentração plasmática máxima média do metabólito M1 nas doses de 2 e 4 mg.kg⁻¹ administradas por via intravenosa em jumentos em relação ao tempo transcorrido.



Com relação aos parâmetros farmacocinéticos analisados para o tramadol, o tempo de meia vida ($t_{1/2}$) apresentou diferença significativa, com maior valor encontrado na dose de 4 mg.kg⁻¹ (tabela 1).

Tabela 1. Parâmetros farmacocinéticos do tramadol, média (mediana) $\pm$ erro padrão, nas doses de 2 e 4 mg.kg⁻¹ após administração intravenosa em asininos.

	Tramadol	
	2mg.kg ⁻¹	4mg.kg ⁻¹
C _{max} (ng/mL)	4732,62 (3128,00) $\pm$ 400,53a	7553,93 (3510,04) $\pm$ 3466,14 a
ASC _{0→t} (ng.h/mL)	2963,35 (2137,31) $\pm$ 238,25a	3303,60 (2913,82) $\pm$ 416,13 a
ASC _{0→∞} (ng.h/mL)	2969,13 (2142,68) $\pm$ 238,48a	3309,68 (2918,42) $\pm$ 415,99 a
t _{1/2} (h)	4,49 (4,37) $\pm$ 0,08 b	5,99 (3,66) $\pm$ 0,39 a
V _{ss} (mL/h/kg)	0,0014 (0,0013) $\pm$ 0,0005a	0,0028 (0,0015) $\pm$ 0,0001 a
Cl (mL/h/kg)	0,0009 (0,0009) $\pm$ 5,55 a	0,001 (0,0009) $\pm$ 0,0002 a
TRM _{0→∞} (h)	1,44 (1,40) $\pm$ 0,04 a	2,27 (1,60) $\pm$ 0,001 a

Legenda: Média (mediana) $\pm$ Erro padrão. Letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística entre os tratamentos. C_{max}: Concentração máxima; ASC_{0→t}: Área da curva do momento 0 até a última mensuração; ASC_{0→∞}: Área da curva do momento 0 até o infinito; V_{ss}: Volume de distribuição em curso estável; t_{1/2}: tempo de meia-vida; Cl: Depuração no plasma; TRM_{0→∞}: Tempo residual médio do momento 0 até o infinito.

Com relação ao M1, os parâmetros tempo residual médio (TRM_{0→∞}) e tempo de meia vida (t_{1/2}) apresentaram diferenças significativas, com maiores valores encontrados na dose de 4 mg.kg⁻¹ (tabela 2).

Tabela 2. Parâmetros farmacocinéticos do metabólito M1, média (mediana) $\pm$ erro padrão, nas doses de 2 e 4 mg.kg⁻¹ após administração intravenosa em asininos.

M1		
	2mg.kg ⁻¹	4mg.kg ⁻¹
T _{max(h)}	0,94 (1,00) $\pm$ 0,02 a	1,19 (1,25) $\pm$ 0,06 a
C _{max(ng/mL)}	90,37 (67,42) $\pm$ 6,72 a	109,62 (93,22) $\pm$ 6,20 ^a
ASC _{0→t(ng.h/ml)}	288,50 (224,56) $\pm$ 22,48 ^a	347,49 (333,44) $\pm$ 16,75 ^a
ASC _{0→∞(ng.h/ml)}	306,96 (245,00) $\pm$ 23,14 ^a	363,05 (344,28) $\pm$ 17,06 a
t _{1/2(h)}	2,50 (2,53) $\pm$ 0,07b	6,95 (5,45) $\pm$ 0,49 ^a
V _{ss(ml/h/kg)}	0,06 (0,06) $\pm$ 0,0051 ^a	0,11 (0,06) $\pm$ 0,01 ^a
Cl (ml/h/kg)	0,017 (0,016) $\pm$ 0,0009 ^a	0,013 (0,011) $\pm$ 0,0008a
TRM _{0→∞(h)}	3,88 (3,66) $\pm$ 0,13b	7,42 (6,10) $\pm$ 0,48 a

Legenda: Média (mediana) $\pm$ Erro padrão. Letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística entre os tratamentos. T_{max}: Tempo para atingir a concentração máxima; C_{max}: Concentração máxima; ASC_{0→t}: Área da curva do momento 0 até a última mensuração; ASC_{0→∞}: Área da curva do momento 0 até o infinito; V_{ss}: Volume de distribuição em curso estável; t_{1/2}: tempo de meia-vida; Cl: Depuração no plasma; TRM_{0→∞}: Tempo residual médio do momento 0 até o infinito.

A ataxia foi observada no primeiro animal do grupo T2 e em 7 animais do grupo T4, com duração entre 5 a 15 minutos. Espasmos musculares, principalmente nos músculos trapézio, deltoide e peitoral foram observados no animal do tratamento 2mg.kg⁻¹ e em 5 animais do tratamento 4 mg.kg⁻¹.

7. DISCUSSÃO

Este estudo é pioneiro em realizar a farmacocinética do principal metabólito do tramadol, O-desmetiltramadol, em jumentos nordestinos utilizando um sistema CLUE-MS/MS acoplado a espectrometria de massas. Vários estudos farmacocinéticos já foram realizados em algumas espécies, contudo nos jumentos só existe um estudo o qual sugere a dose de $2,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ como ideal para espécie asinina, embora não tenha conseguido quantificar o metabólito principal (M1) que possui alta afinidade pelos receptores μ o que poderia sugerir, para esta espécie, pouca eficácia analgésica (GIORGI et al., 2009). O tramadol vem sendo utilizado como alternativa para o tratamento da dor moderada devido às suas atividades opioidérgicas e monoaminérgicas (BARAKAT, 2019) e em algumas espécies animais como cães e cavalos, já existe comprovação clínica de seu efeito analgésico (MASTROCINQUE; FANTONI, 2003); (CAGNARDI et al., 2014).

O emprego de tramadol em asininos ainda é bastante insipiente e as doses utilizadas ainda não foram estudadas nesses animais, por isso a importância de pesquisá-las. Com base nas doses sugeridas na literatura, confrontamos as doses de 2 mg.kg^{-1} e 4 mg.kg^{-1} em jumentos no intuito de observar qual apresentaria padrão farmacocinético adequado para promover a analgesia sem observação de efeitos adversos.

Os efeitos adversos observados foram espasmos musculares e ataxia. Na dose de 2 mg.kg^{-1} , apenas o primeiro animal do estudo apresentou esses comportamentos, pois a administração do fármaco foi realizada rapidamente. A partir deste animal, portanto, foi estabelecido um tempo de administração com duração de 2 minutos. Esses dados condizem com Shilo et al. (2008), os quais observaram que nos dois primeiros cavalos apresentaram esses efeitos devido a rápida administração por via intravenosa. Giorgi et al. (2009) não

observaram alterações comportamentais em jumentos, devido à instituição de tempo para infusão do fármaco de três minutos.

Ao administrar a dose de 4mg.kg^{-1} , sete animais apresentaram tais comportamentos, o que condiz com os estudos de Stewart et al. (2011) e Knych et al. (2013), em que ao utilizar doses mais altas de tramadol, 5 mg.kg^{-1} e 3 mg.kg^{-1} respectivamente, em cavalos observaram efeitos semelhantes, como ataxia e espasmos musculares principalmente de músculo peitoral e abdominais. Stewart et al. (2011), observaram duração dos espasmos de até 68 minutos, diferente do presente estudo, que apresentou duração entre 5 e 15 minutos. Sugere-se que esses efeitos estejam relacionados ao tramadol e não aos seus metabólitos, pois ocorrem logo após a administração do mesmo, quando a concentração plasmática do fármaco está mais elevada. Além disso, demonstra-se que em doses maiores o tramadol tende a ocasionar esses efeitos adversos de forma mais pronunciada (KNYCH et al., 2013).

Esses efeitos descritos nos animais podem estar associados à síndrome serotoninérgica, uma condição que resulta do excesso de serotonina em receptores do sistema nervoso central e periférico, associada ao uso de fármacos que inibem sua recaptação e liberação, podendo ocorrer após administração única do fármaco, após mudança da dose ou até mesmo ao se administrar dose excessiva (JUREK et al., 2019). Os casos reportados dessa síndrome em humanos após o uso de tramadol são descritos geralmente após dose excessiva, pois em altas doses o mesmo pode induzir a liberação de serotonina e provocar mudanças nas funções autonômicas e neuromusculares, como depressão do sistema nervoso central, taquicardia e convulsões (BEAKLEY; KAYE; KAYE, 2015).

Os parâmetros farmacocinéticos analisados apresentaram semelhanças e diferenças, principalmente no que diz respeito à detecção do M1, quando comparados ao trabalho com asininos, com dose de $2,5\text{ mg.kg}^{-1}$ (GIORGI et al., 2009) e aos demais trabalhos citados em

equinos, que utilizaram 2 mg.kg⁻¹ (SHILO et al., 2008); 3 mg.kg⁻¹ (KNYCH et al., 2013); 4 mg.kg⁻¹ (CAGNARDI et al., 2014); 5 mg.kg⁻¹ (GIORGI et al., 2007; STEWART et al., 2011), todos estes trabalhos incluíram a via intravenosa em pelo menos um dos grupos estudados. Essas diferenças podem estar relacionadas às características intrínsecas de cada metodologia, uma vez que utilizaram detectores e condições cromatográficas diferentes. O detector utilizado nesse estudo apresenta maior sensibilidade na detecção das concentrações do metabólito e dos parâmetros farmacocinéticos avaliados.

No presente estudo, o M1 foi quantificado por até 12 horas de análise e detectamos até 48 horas. O M1 foi detectado em asininos por Giorgi et al. (2009), entretanto apresentou concentrações muito baixas, não podendo ser quantificado. Apenas os trabalhos de Knych et al. (2013) e Cagnardi et al. (2014) conseguiram detectar e quantificar o M1 em cavalos, pois utilizaram aparelho de cromatografia e detectores semelhantes aos utilizados nesse estudo.

A eficácia analgésica do tramadol está diretamente atribuída ao M1, desta forma é importante saber que os jumentos conseguem produzir este metabólito. Para que haja a formação do M1, a metabolização está diretamente relacionada à espécie animal na qual o tramadol será administrado e à metabolização hepática de cada indivíduo, além dos polimorfismos das enzimas do CYP450, que podem alterar parâmetros farmacocinéticos como velocidade de sua metabolização, comprometendo seus efeitos (RUEL; STEAGALL, 2019). Embora o tramadol após ser metabolizado consiga subdividir-se em mais de 20 metabólitos em humanos, os estudos ainda não afirmam com precisão a respeito de outros metabólitos também envolvidos na capacidade analgésica do fármaco. Alguns estudos afirmam que o M5 (N, O-desmetiltramadol) também estaria envolvido na eficácia analgésica, entretanto sua relevância clínica ainda não foi definida (BEAKLEY; KAYE; KAYE, 2015).

Os valores encontrados para as concentrações plasmáticas máximas do tramadol foram de 4732,62 e 7553,93 ng/ml; e para M1 de 90,37 e 109,62 ng/ml, nas doses de 2 e 4 mg.kg⁻¹ respectivamente, acima das descritas em humanos. As concentrações plasmáticas do tramadol para promover analgesia ainda não foram definidas em cavalos e nem em jumentos. Em humanos, variam em média entre 100 a 590 ng/ml para o tramadol e para o M1, de 36 a 84 ng/ml (KNYCH et al., 2013). Cagnardi et al. (2014) ao administrar tramadol em cavalos para estudo clínico de sua eficácia analgésica em orquiectomia, encontraram valor para C_{máx} de 7400 ng/ml, bastante similar ao encontrado no presente estudo para a maior dose. Os autores, por sua vez, descrevem que esta concentração foi responsável por promover maior conforto para os animais e, consequentemente, recuperação pós-cirúrgica mais suave. Estudos clínicos em asininos são necessários para avaliar se o mesmo ocorre nessa espécie.

O M1, por sua vez, apresentou T_{máx} de 0,94 h e 1,19 h para as doses de 2 e 4 mg.kg⁻¹, respectivamente. Esses valores foram maiores que os encontrados por Knych et al. (2013), que encontraram valor de 0,56 h e Cagnardi et al. (2014), que obtiveram valor de 0,75 h.

A ASC_{0→t} possibilita avaliar a biodisponibilidade de um fármaco e seus metabólitos, os resultados desta pesquisa apresentaram maiores valores na dose de 2 mg.kg⁻¹ (2963,35 ng.h/ml) do que na dose de 4 mg.kg⁻¹ (3303,60 ng.h/ml) com relação ao tramadol. Esses valores foram comparáveis ao encontrados no estudo de Shilo et al (2008), utilizando a dose de 2mg.kg⁻¹, via IV, o valor da ASC_{0→t} foi de 4.470 ng.h/ml. Entretanto, Giorgi et al. (2009) com a dose de 2,5 mg.kg⁻¹ IV em asininos obtiveram 14.522 ng.h/ml.

O t_{1/2} do tramadol foi 4,49 h e 5,99 h na dose de 2 e 4 mg.kg⁻¹, respectivamente. Esses valores apresentaram-se superiores aos demais trabalhos, sendo comparável ao encontrado por Knych et al. (2013) em cavalos, com a dose de 3 mg.kg⁻¹, que foi de 3,05 h.

Em asininos, Giorgi et al. (2009) encontraram $t_{1/2}$ de 1,55 h na dose de 2,5 mg.kg⁻¹, o que pode estar associado com a capacidade de metabolização dos indivíduos que foram utilizados, bem como, a capacidade de depuração do fármaco. Apesar de ambos estudos terem trabalhado com jumentos, os animais eram de raças diferentes, com características corpóreas distintas como o peso do jumento italiano ser superior ao dos jumentos nordestinos.

Com relação ao metabólito foi encontrado valor para $t_{1/2}$ de 6,95 h na dose de 4mg.kg⁻¹ e 2,50 h na dose de 2 mg.kg⁻¹. Essa diferença significativa entre as doses foi esperada, uma vez que na menor dose o metabólito tende a atingir metade de sua concentração plasmática máxima mais rapidamente. Knych et al. (2013), nas doses de 1,5 e 3 mg.kg⁻¹, encontraram $t_{1/2}$ para M1 de 3,95 h e 3,83 h, respectivamente.

O TRM $0 \rightarrow \infty$ para o tramadol foi de 1,44 h e 2,27 h nas doses de 2 e 4 mg.kg⁻¹, respectivamente, sendo comparáveis aos encontrados por Stewart et al. (2011) de 2,81h, Knych et al. (2013) que foi de 1,80 h e 2,30 h nas doses de 1,5 e 3 mg.kg⁻¹ e Cagnardi et al. (2014), que encontraram valor de 1,76 h. Com relação ao metabólito, Cagnardi et al. (2014) encontraram valor para o M1 de 4,78 h, comparável para a dose de 2 mg.kg⁻¹, que foi de 3,88 h, mas muito diferente do encontrado na dose de 4 mg.kg⁻¹, que foi de 7,42 h. No presente estudo, a diferença significativa apresentada entre as duas doses desse estudo sugere que na maior dose o M1 permanece por mais tempo no organismo desses animais. Esse valor pode estar relacionado ao volume de distribuição do M1, que apresentou o dobro do valor na maior dose, sendo de 0,06 ng/(mg/ml) na dose de 2 mg.kg⁻¹ e de 0,11 ng/(mg/ml) na dose de 4 mg.kg⁻¹. Esses valores demonstram que, na maior dose, o metabólito apresentou maior afinidade pelos tecidos, permanecendo por mais tempo no organismo. No estudo de Knych et al. (2013), ao aumentar gradativamente as doses de tramadol, ocorreu aumento no volume de distribuição, com aumento significativo no

tempo de meia-vida de eliminação e no tempo residual médio, sendo o mesmo observado nesse estudo com o aumento da dose.

A depuração do tramadol apresentou-se maior na dose de 4 mg.kg^{-1} , já esperado de ocorrer pois a taxa de eliminação do fármaco é proporcional à sua concentração plasmática (BEREZHKOVSIIY, 2016). Este dado foi comparável ao encontrado por Giorgi et al. (2007) em cavalos e bastante inferior à encontrada no estudo de asininos. Com relação ao metabólito, por sua vez, a depuração apresentou-se superior aos valores encontrados para o tramadol, e isto pode ser explicado devido ao tempo que o fármaco necessita para formar o metabólito, o que implica em maior tempo para ser eliminado.

8. CONCLUSÃO

O tramadol e o M1 nas duas doses utilizadas atingiram concentrações plasmáticas consideradas efetivas para analgesia, embora estudos clínicos sejam necessários. A validação do método foi adequada para o presente estudo. Sugere-se intervalo de administração de aproximadamente 2,5 e 6,9 horas para as doses de 2 e 4 mg.kg^{-1} respectivamente. É necessário administrar o fármaco em tempo maior que 2 minutos para as duas doses, com intuito de se evitar efeitos adversos.

REFERÊNCIAS

- ABBIATI, R. A. et al. A physiologically based model for tramadol pharmacokinetics in horses. **Journal of Theoretical Biology**, v. 429, p. 46–51, 2017.
- ALI, M. et al. The contribution of donkeys to human health Equine. **Equine Veterinary Journal**, v. 46, p. 766–767, 2014.
- ATTAL, N. Pharmacological treatments of neuropathic pain: The latest recommendations. **Revue Neurologique**, v. 175, n. 1–2, p. 46–50, 2019.
- BARAKAT, A. Revisiting Tramadol: A Multi-Modal Agent for Pain Management. **CNS Drugs**, v. 33, n. 5, p. 481–501, 2019.
- BARRIO, E.; RICKARDS, K. J.; THIEMANN, A. K. Clinical Evaluation and Preventative Care in Donkeys. **Veterinary Clinics of North America - Equine Practice**, v. 35, n. 3, p. 545–560, 2019.
- BEAKLEY, B. D.; KAYE, A. M.; KAYE, A. D. Tramadol, Pharmacology, Side Effects, and Serotonin Syndrome: A Review. **Pain Physician**, v. 18, n. 10, p. 395–400, 2015.
- BELL, A. The neurobiology of acute pain. **The Veterinary Journal**, v. 237, p. 55–62, 2018.
- BEREZHKOVSKIY, L. M. On the accuracy of calculation of the mean residence time of drug in the body and its volumes of distribution based on the assumption of central elimination. **Xenobiotica**, v. 46, n. 6, p. 477–482, 2016.
- BORTOLAMI, E. et al. Pharmacokinetics and antinociceptive effects of tramadol and its metabolite O-desmethyltramadol following intravenous administration in sheep. **Veterinary Journal**, v. 205, n. 3, p. 404–409, 2015.
- BRAVO, L.; MICO, J. A.; BERROCOSO, E. Discovery and development of tramadol for the treatment of pain. **Expert Opinion on Drug Discovery**, v. 12, n. 12, p. 1281–1291, 2017.
- BROSNAHAN, M. M. Genetics, Evolution, and Physiology of Donkeys and Mules. **Veterinary Clinics of North America - Equine Practice**, v. 35, n. 3, p. 457–467, 2019.
- BURDEN, F.; THIEMANN, A. Donkeys are different. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 35, n. 5, p. 376–382, 2015.
- BURNHAM, S. L. Anatomical Differences of the Donkey and Mule. **Proceedings of the Annual Convention of the AAEP 2002**, v. 48, p. 102–109, 2002.
- CAGNARDI, P. et al. Pharmacokinetics, intraoperative effect and postoperative analgesia of tramadol in cats. **Research in Veterinary Science**, v. 90, n. 3, p. 503–509, 2011.
- CAGNARDI, P. et al. Clinical pharmacokinetics of tramadol and main metabolites in horses undergoing orchiectomy. **Veterinary Quarterly**, v. 34, n. 3, p. 143–151, 2014.
- CORADO, C. R. et al. Evidence for polymorphism in the cytochrome P450 2D50 gene in

horses. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 39, n. 3, p. 245–254, 2016.

DE GRAUW, J. C.; VAN LOON, J. P. A. M. Systematic pain assessment in horses. **Veterinary Journal**, v. 209, p. 14–22, 2016.

DE ROSE, P.; CANNAS, E.; CANTIELLO, P. R. Donkey-assisted rehabilitation program for children: a pilot study. **Ann Ist Super Sanita.**, v. 47, p. 391396, 2011.

DOOGUE, M. P.; POLASEK, T. M. The ABCD of clinical pharmacokinetics. **Therapeutic Advances in Drug Safety**, v. 4, n. 1, p. 5–7, 2013.

FAN, J.; DE LANNOY, I. A. M. Pharmacokinetics. **Biochemical Pharmacology**, v. 87, n. 1, p. 93–120, 2014.

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

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, n. 11, 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.

GIORGI, M. et al. Pharmacokinetics of tramadol and metabolites after injective administrations in dogs. **Polish Journal of Veterinary Sciences**, v. 13, n. 4, p. 639–644, 2010.

GIORGI, M. Tramadol vs tapentadol: Anew horizon in pain treatment? **American Journal of Animal and Veterinary Sciences**, v. 7, n. 1, p. 7–11, 2012.

GLEERUP, K. B.; LINDEGAARD, C. Recognition and quantification of pain in horses: A tutorial review. **Equine Veterinary Education**, v. 28, n. 1, p. 47–57, 2016.

GOZALO-MARCILLA, M.; GASTHUYS, F.; SCHAUVLIEGE, S. Partial intravenous anaesthesia in the horse: A review of intravenous agents used to supplement equine inhalation anaesthesia: Part 2: Opioids and alpha-2 adrenoceptor agonists. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 42, n. 1, p. 1–16, 2015.

GROND, S.; SABLOSTZKI, A. Clinical pharmacology of tramadol. **Clin Pharmacokinet**, v. 43, p. 879–923, 2004.

GROSENBAUGH, D. A.; REINEMEYER, C. R.; FIGUEIREDO, M. D. Pharmacology and therapeutics in donkeys. **Equine Veterinary Education**, v. 23, n. 10, p. 523–530, 2011.

HAAGE, P. et al. Enantioselective pharmacokinetics of tramadol and its three main metabolites; impact of CYP2D6, CYP2B6, and CYP3A4 genotype. **Pharmacology Research and Perspectives**, v. 6, n. 4, p. 1–10, 2018.

HASSAMAL, S. et al. Tramadol: Understanding the Risk of Serotonin Syndrome and Seizures. **American Journal of Medicine**, v. 131, n. 11, p. 1382.e1-1382.e6, 2018.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2013>>. Acesso em: 12 nov. 2019.

JUREK, L. et al. Le syndrome sérotoninergique : une revue actualisée de la littérature The serotonin syndrome : An updated literature review. **La revue de médecine interne**, v. 40, n. 2, p. 98–104, 2019.

KELLY, K. R.; PYPENDOP, B. H.; CHRISTE, K. L. Pharmacokinetics of tramadol following intravenous and oral administration in male rhesus macaques (*Macaca mulatta*). **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 38, n. 4, p. 375–382, 2015.

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, 2013a.

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, 2013b.

LIZARRAGA, I.; SUMANO, H.; BRUMBAUGH, G. W. Pharmacological and pharmacokinetic differences between donkeys and horses. **Equine Veterinary Education**, v. 16, n. 2, p. 102–112, 2004.

MAMA, K. R.; HECTOR, R. C. Therapeutic developments in equine pain management. **The Veterinary Journal**, v. 247, p. 50–56, 2019.

MARQUES, D. D.; NETO, P. I. N.; CARVALHO, K. DOS S. Emprego da cola de cianoacrilato em feridas cutâneas de asininos. **Ciencia Animal Brasileira**, v. 14, n. 1, p. 74–80, 2013.

MARZOK, M. A.; EL-KHODERY, S. A. Comparative analgesic and sedative effects of tramadol, tramadol-lidocaine and lidocaine for caudal epidural analgesia in donkeys (*Equus asinus*). **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 42, p. 215–219, 2015.

MASTROCINQUE, S.; FANTONI, D. T. A comparison of preoperative tramadol and morphine for the control of early postoperative pain in canine ovariohysterectomy. **Veterinary anaesthesia and analgesia**, v. 30, n. 4, p. 220–228, 2003.

MATTHEWS, N.; VAN LOON, J. P. A. M. Anaesthesia and analgesia of the donkey and the mule. **Equine Veterinary Education**, v. 25, n. 1, p. 47–51, 2013.

MATTHEWS, N.; VAN LOON, J. P. A. M. Anesthesia, Sedation, and Pain Management of Donkeys and Mules. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 35, p. 515–527, 2019.

MCLEAN, A. K.; GONZÁLEZ, F. J. N.; CANISSO, I. F. Donkey and Mule Behavior. **Veterinary Clinics of North America - Equine Practice**, v. 35, n. 3, p. 575–588, 2019.

MENDOZA, F. J.; PEREZ-ECIJA, ALEJANDRO TORIBIO, R. E. Clinical Pharmacology in Donkeys and Mules. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 35, p. 589–606, 2019.

- MIOTTO, K. et al. Trends in Tramadol: Pharmacology, Metabolism, and Misuse. **Anesthesia and Analgesia**, v. 124, n. 1, p. 44–51, 2017.
- NATALINI, C. C.; ROBINSON, E. P. Evaluation of the analgesic effects of epidurally administered morphine, alfentanil, butorphanol, tramadol, and U50488H in horses. **American Journal of Veterinary Research**, v. 61, p. 1579–1586, 2000.
- OBENG, A. O.; HAMADEH, I.; SMITH, M. Review of Opioid Pharmacogenetics and Considerations for Pain Management. **International Journal of Laboratory Hematology**, v. 37, p. 1105–1121, 2017.
- PILLA, R. et al. Hygienic and health characteristics of donkey milk during a follow-up study. **Journal of Dairy Research**, v. 77, n. 4, p. 392–397, 2010.
- REGAN, F. H. et al. Behavioural repertoire of working donkeys and consistency of behaviour over time, as a preliminary step towards identifying pain-related behaviours. **PLoS ONE**, v. 9, n. 7, p. 1–7, 2014.
- REGAN, F. H. et al. Identifying behavioural differences in working donkeys in response to analgesic administration. **Equine Veterinary Journal**, v. 48, n. 1, p. 33–38, 2016.
- RUEL, H. L. M.; STEAGALL, P. V. Adjuvant Analgesics in Acute Pain Management. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 49, p. 1127–1141, 2019.
- SANCHEZ, L. C.; ROBERTSON, S. A. Pain control in horses: What do we really know? **Equine Veterinary Journal**, v. 46, n. 4, p. 517–523, 2014.
- SCHAUVLIEGE, S. Opioids for field procedures in equine practice. **Veterinary Record**, v. 175, p. 621–622, 2014.
- SHILO, Y. et al. Pharmacokinetics of tramadol in horses after intravenous, intramuscular and oral administration. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 31, n. 1, p. 60–65, 2008.
- STEWART, A. J. et al. Pharmacokinetics of tramadol and metabolites O-desmethyltramadol and N-desmethyltramadol in Adult Horses. **American Journal of Veterinary Research**, v. 72, n. 7, p. 967–974, 2011.
- SUBEDI, M. et al. An overview of tramadol and its usage in pain management and future perspective. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 111, n. October 2018, p. 443–451, 2019.
- TAYLOR, P. M.; PASCOE, P. J.; MAMA, K. R. Diagnosing and treating pain in the horse. Where are we today? **Veterinary Clinics of North America - Equine Practice**, v. 18, n. 1, p. 1–19, 2002.
- TAYLOR, T. S.; MATTHEWS, N. S. Mammoth asses - Selected behavioural considerations for the veterinarian. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 60, n. 2–3, p. 283–289, 1998.
- THIGPEN, J. C.; ODLE, B. L.; HARIRFOROOSH, S. Opioids: A Review of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics in Neonates, Infants, and Children. **European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics**, v. 44, n. 5, p. 591–609, 2019.

TRESCOT, A. M. et al. Opioid pharmacology. **Pain Physician**, v. 11, n. SPEC. ISS. 2, p. 133–154, 2008.

URSO, R.; BLARDI, P.; GIORGI, G. A short introduction to pharmacokinetics. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v. 6, p. 33–44, 2002.

VADIVELU, N. et al. Ketorolac, Oxymorphone, Tapentadol, and Tramadol: A Comprehensive Review. **Anesthesiology Clinics**, v. 35, n. 2, p. e1–e20, 2017.

VAN LOON, J. P. A. M.; VAN DIERENDONCK, M. C. Objective pain assessment in horses (2014–2018). **Veterinary Journal**, v. 242, p. 1–7, 2018.

VIGANI, A.; GARCIA-PEREIRA, F. L. Anesthesia and analgesia for standing equine surgery. **Veterinary Clinics of North America - Equine Practice**, v. 30, n. 1, p. 1–17, 2014.