

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA ANIMAL: EQUINOS**

**USO DO TRAMADOL VIA NASOGÁSTRICA E SEUS EFEITOS EM EQUINOS  
SUBMETIDOS À IVERMECTINA COMO INIBIDOR DA GP-P ENTÉRICA**

**Fernando Silvério Ferreira da Cruz**

**Porto Alegre, RS, Brasil**

**2015**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**FACULDADE DE VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA ANIMAL: EQUINOS**

**USO DO TRAMADOL VIA NASOGÁSTRICA E SEUS EFEITOS EM EQUINOS  
SUBMETIDOS À IVERMECTINA COMO INIBIDOR DA GP-P ENTÉRICA**

**Autor: Fernando Silvério Ferreira da Cruz**

Tese apresentada como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Medicina Animal: Equinos na área de Fatores que afetam o desempenho atlético dos equinos.

**Orientador: Prof. PhD. Cláudio Corrêa Natalini**

**Porto Alegre, RS, Brasil**

**2015**

# FICHA CATALOGRÁFICA

## CIP - Catalogação na Publicação

Silvério Ferreira da Cruz, Fernando  
USO DO TRAMADOL VIA NASOGÁSTRICA E SEUS EFEITOS  
EM EQUINOS SUBMETIDOS À IVERMECTINA COMO INIBIDOR DA  
GP-P ENTÉRICA / Fernando Silvério Ferreira da Cruz. --  
2015.  
82 f.

Orientador: Claudio Corrêa Natalini.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de  
Pós-Graduação em Medicina Animal: Equinos, Porto  
Alegre, BR-RS, 2015.

1. Tramadol. 2. Ivermectina. 3. Glicoproteína P.  
4. Claudicação. 5. Equinos. I. Corrêa Natalini,  
Claudio, orient. II. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**FACULDADE DE VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA ANIMAL: EQUINOS**

**TÍTULO:**

Uso do tramadol via nasogástrica e seus efeitos em equinos submetidos à ivermectina como inibidor da gp-p entérica

**AUTOR:**

Fernando Silvério Ferreira da Cruz

**Aprovado em 08/05/2015**

**APROVADO POR:**

---

**Prof. Ph.D. Cláudio Corrêa Natalini**  
**(Orientador)**

---

**Prof. Dr. Daniel Curvello de Mendonça Müller (UNIJUÍ)**

---

**Prof. Dr. Flavio Dessessards De la Corte (UFSM)**

---

**Prof. Dr. Alexandre da Silva Polydoro**  
**(Presidente)**

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Professor Natalini, primeiramente pela oportunidade e confiança, pela orientação, amizade, paciência e pela sabedoria passada.

Ao Prof. Carregaro, que me ajudou desde o início da minha vida profissional e literalmente me acolheu, sempre sendo um exemplo a ser seguido.

A meus pais Mariângela e Renato (*in memoriam*), os quais sempre me estimularam e me apoiaram nas decisões, mesmo que nas erradas, me mostrando o caminho certo. Meu MUITO OBRIGADO!!!

A Priscila Serpa pela paciência e muita!!, e pelo tempo para ensinar as novidades e as técnicas de laboratório.

Ao Professor Rodrigo Costa Mattos pela ajuda nos momentos em que precisei.

Ao Prof. Flavio, pelas análises realizadas e pela parceria, sempre nos apoiando.

A Bruna, Tainor e Ananda pela amizade e ajuda durante todas as fases do doutorado, pelas conversas e brincadeiras tornando os dias mais leves.

A todos os membros, mestrandos, doutorandos, estagiários, bolsistas do LAFA pelo companheirismo durante meu tempo em Porto Alegre e longe também.

Aos pós graduandos, estagiários, monitores do REPROLAB pela ajuda nos cuidados com os animais.

A toda minha família, a qual sempre me apoiou e me ajudou na realização dos meus trabalhos e mudanças.

Aos colegas do DEAg, os quais me ajudaram e deram apoio, em particular ao Prof. Daniel e a Profa. Cleusa.

Aos animais, os quais nos dedicam seu amor incondicional e nos inspiram a continuar trabalhando em prol dos mesmos.

## DEDICATÓRIA

*A minha esposa Melissa e filho Henrique pela compreensão, pelos momentos em que estive ausente e pelo amor incondicional, o qual me dá força sempre!*

## RESUMO

Tese de Doutorado  
Programa de Pós Graduação em Medicina Animal: Equinos  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

### **USO DO TRAMADOL VIA NASOGÁSTRICA E SEUS EFEITOS EM EQUINOS SUBMETIDOS À IVERMECTINA COMO INIBIDOR DA GP-P ENTÉRICA**

AUTOR: FERNANDO SILVÉRIO FERREIRA DA CRUZ

ORIENTADOR: CLAUDIO CORRÊA NATALINI

Data e Local da Defesa: Porto Alegre, 08 de maio de 2015.

O cloridrato de tramadol é um analgésico de ação central, análogo sintético da codeína e morfina, o qual vem sendo amplamente estudado em equinos, sendo avaliado sua farmacocinética e farmacodinâmica. Em humanos, há relato de que o tramadol é substrato para a Gp-P, o que pode ser fator limitante na absorção do tramadol. A Gp-P funciona como uma bomba de efluxo celular, de maneira que, transporta ativamente xenobióticos do meio intracelular para o extracelular, atuando como um mecanismo de proteção contra xenobióticos. O estudo teve como objetivo a detecção do Gene MDR1 a partir do cDNA, e avaliar as alterações fisiológicas e efeito analgésico do tramadol em equinos submetidos a inibição da Gp-P entérica pela ivermectina. Seis equinos, machos e fêmeas, pesando  $448 \pm 68$  Kg, foram distribuídos em três grupos autocontrole, recebendo tramadol por sonda nasogástrica na dose 1 mg/kg (GT1), 4 mg/kg (GT4) e recebendo tramadol 1mg/kg associada a ivermectina 0,2mg/kg VO. Foram avaliados FC, *f*, motilidade intestinal, temperatura corpórea aos 30 min antes, imediatamente antes da administração de qualquer substância para determinação dos valores basais e aos 30min, 60 min, 90 min, 120 min e a cada 60 min até 360 min após o tratamento. A claudicação foi avaliada aos 30 min, 60 min e a cada 60 min até os 360 min. Os parâmetros hemogasométricos foram avaliados no momento 0, 60 min e 120 min. Para as variáveis paramétricas utilizou-se análise de variância (ANOVA) para amostras pareadas, com posterior teste de Dunnett. Para comparações entre os grupos, realizou-se análise de variância, seguido de teste de Tukey. Para a variável não-paramétrica, motilidade intestinal, utilizou-se teste de Wilcoxon para amostras pareadas. As diferenças foram consideradas significantes quando  $P < 0,05$ . Não foram observadas diferenças na FC e na avaliação analgésica. Houve hipomotilidade no GT1 e GT4 apenas ao final das avaliações e aumento da *f* em todos os grupos. Houve aumento do  $\text{HCO}_3^+$  e redução do  $\text{K}^+$  e  $\text{Ca}^{++}$ . Conclui-se que a inibição da Gp-P entérica pela ivermectina não alterou os efeitos do tramadol nas doses estudadas, sugerindo que o mesmo não é substrato para Gp-P, mas estudos futuros devem ser



realizados a fim de avaliar a interação da ivermectina como inibidor da Gp-P na farmacocinética do tramadol.

**Palavras-Chave:** Tramadol; Ivermectina; Glicoproteína P; Equinos; Claudicação

## **ABSTRACT**

Doctoral Tesis

Equine: Animal Medicine Post Graduate Program  
Federal University of Rio Grande do Sul

### **TRAMADOL ADMINISTRATION BY NASOGASTRIC ROUTE AND ITS EFFECTS IN HORSES SUBMITTED TO IVERMECTIN AS ENTERIC P-GP INHIBITOR**

AUTHOR: FERNANDO SILVÉRIO FERREIRA DA CRUZ

ADVISOR: CLAUDIO CORRÊA NATALINI

Porto Alegre, may 08<sup>th</sup> 2015.

Tramadol hydrochloride is a centrally acting analgesic, synthetic analogue of codeine and morphine, which has been widely studied in horses, being evaluated its pharmacokinetics and pharmacodynamics. In humans, there is a report that tramadol is a substrate for P-gp, which can be a limiting factor in the absorption of tramadol. P-gp acts as an efflux pump cell, that actively transports xenobiotics from the intracellular to the extracellular environment, acting as a protective mechanism against xenobiotic. The study aimed the detection of MDR1 Gene from cDNA, and the evaluation of physiological parameters and analgesic effect of tramadol in horses submitted to inhibition of enteric P-gp by ivermectin. Six horses, control of themselves, male and female, weighing  $448 \pm 68$ kg, were distributed into three groups, receiving tramadol by nasogastric tube in dose of 1 mg/kg (GT1), 4 mg/kg (GT4) and tramadol 1 mg/kg associated with ivermectin 0.2 mg/kg orally. Were evaluated HR, RR, intestinal motility, body temperature 30 min before, and immediately before the administration of any substance for determination of baseline and posterior at 30 min, 60 min, 90 min, 120 min and every 60 min up to 360 min after treatment. The analgesic evaluation occurred at 30 min, 60 min and every 60 min to 360 min. Blood gas parameters were evaluated at 0, 60 min and 120 min. For parametric variables were used analysis of variance (ANOVA) for paired samples, followed by Dunnett's test. For comparisons between groups, ANOVA followed by Tukey test were used. The non-parametric variable, intestinal motility, we used the Wilcoxon test for paired samples. Differences were considered significant when  $P < 0.05$ . Differences in HR and analgesic evaluation were not observed. Hypomotility occurs in GT1 and GT4 only at the end of evaluation and RR increased in all groups. There was an increase of  $\text{HCO}_3^-$  and reduction of  $\text{K}^+$  and  $\text{Ca}^{++}$ . We conclude that inhibition of enteric P-gp by ivermectin did not alter the effects of tramadol in the studied doses, suggesting that tramadol it is not

a substrate for P-gp, but future studies should be conducted to assess the interaction of ivermectin as inhibitor of P-gp on the pharmacokinetics of tramadol.

**Palavras-Chave:** Tramadol; Ivermectin; P-Glycoprotein; Horses; Lameness

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Estrutura química da morfina, codeína, tramadol e O-desmetiltramadol.....	23
Figura 2-	Principais vias do metabolismo do tramadol e principais compostos em humanos.....	25
Figura 3-	Avaliação da frequência cardíaca de equinos submetidos a administração de cloridrato de tramadol por sonda nasogástrica nas doses de 1mg/kg (GT1), 4mg/kg (GT4) ou de 1mg/kg associado a 0,2 mg/kg de ivermectina (GT1+Ive).....	70
Figura 4-	Avaliação da frequência respiratória de equinos submetidos a administração de cloridrato de tramadol por sonda nasogástrica nas doses de 1mg/kg (GT1), 4mg/kg (GT4) ou de 1mg/kg associado a 0,2 mg/kg de ivermectina (GT1+Ive).....	70
Figura 5-	Avaliação da motilidade intestinal de equinos submetidos a administração de cloridrato de tramadol por sonda nasogástrica nas doses de 1mg/kg (GT1), 4mg/kg (GT4) ou de 1mg/kg associado a 0,2 mg/kg de ivermectina (GT1+Ive).....	72
Figura 6-	Avaliação do pH sanguíneo de equinos submetidos a administração de cloridrato de tramadol por sonda nasogástrica nas doses de 1mg/kg (GT1), 4mg/kg (GT4) ou de 1mg/kg associado a 0,2 mg/kg de ivermectina (GT1+Ive).....	74
Figura 7-	Avaliação do $\text{HCO}_3^-$ (mmol/L) sanguíneo de equinos submetidos a administração de cloridrato de tramadol por sonda nasogástrica nas doses de 1mg/kg (GT1), 4mg/kg (GT4) ou de 1mg/kg associado a 0,2 mg/kg de ivermectina (GT1+Ive).....	74
Figura 8-	Avaliação da $\text{PaCO}_2$ (mmHg) de equinos submetidos a administração de cloridrato de tramadol por sonda nasogástrica nas doses de 1mg/kg (GT1), 4mg/kg (GT4) ou de 1mg/kg associado a 0,2 mg/kg de ivermectina (GT1+Ive).....	75
Figura 9-	Avaliação da $\text{PaO}_2$ (mmHg) de equinos submetidos a administração de cloridrato de tramadol por sonda nasogástrica nas doses de 1mg/kg (GT1), 4mg/kg (GT4) ou de 1mg/kg associado a 0,2 mg/kg de ivermectina (GT1+Ive).....	75
Figura 10-	Avaliação do $\text{SaO}_2$ (%) de equinos submetidos a administração de cloridrato de tramadol por sonda nasogástrica nas doses de 1mg/kg (GT1), 4mg/kg (GT4) ou de 1mg/kg associado a 0,2 mg/kg de ivermectina (GT1+Ive).....	76
Figura 11-	Avaliação do $\text{K}^+$ (mmol/L) sanguíneo de equinos submetidos a administração de cloridrato de tramadol por sonda nasogástrica nas doses de 1mg/kg (GT1), 4mg/kg (GT4) ou de 1mg/kg associado a 0,2 mg/kg de ivermectina (GT1+Ive).....	76

Figura 12-	Avaliação do Na <sup>+</sup> (mmol/L) sanguíneo de equinos submetidos a administração de cloridrato de tramadol por sonda nasogástrica nas doses de 1mg/kg (GT1), 4mg/kg (GT4) ou de 1mg/kg associado a 0,2 mg/kg de ivermectina (GT1+Ive).....	77
Figura 13-	Avaliação do Ca <sup>++</sup> (mmol/L) sanguíneo de equinos submetidos a administração de cloridrato de tramadol por sonda nasogástrica nas doses de 1mg/kg (GT1), 4mg/kg (GT4) ou de 1mg/kg associado a 0,2 mg/kg de ivermectina (GT1+Ive).....	77
Figura 14-	Avaliação do grau de claudicação de equinos submetidos a administração de cloridrato de tramadol por sonda nasogástrica nas doses de 1mg/kg (GT1), 4mg/kg (GT4) ou de 1mg/kg associado a 0,2 mg/kg de ivermectina (GT1+Ive).....	79
Figura 15-	Avaliação da temperatura corpórea (°C) de equinos submetidos a administração de cloridrato de tramadol por sonda nasogástrica nas doses de 1mg/kg (GT1), 4mg/kg (GT4) ou de 1mg/kg associado a 0,2 mg/kg de ivermectina (GT1+Ive).....	81
Figura 16-	Ferradura modificada com barra fixa no bordo interior, possuindo dois orifícios com rosca para parafusos de 10 mm para compressão solar em equinos.....	82

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Avaliação da frequência cardíaca e respiratória de equinos submetidos a administração de cloridrato de tramadol por sonda nasogástrica nas doses de 1mg/kg (GT1), 4mg/kg (GT4) ou de 1mg/kg associado a 0,2 mg/kg de ivermectina (GT1+Ive).....	69
Tabela 2-	Avaliação da motilidade intestinal de equinos submetidos a administração de cloridrato de tramadol por sonda nasogástrica nas doses de 1mg/kg (GT1), 4mg/kg (GT4) ou de 1mg/kg associado a 0,2 mg/kg de ivermectina (GT+Ive).....	71
Tabela 3-	Avaliação dos parâmetros hemogasométricos de equinos submetidos a administração de cloridrato de tramadol por sonda nasogástrica nas doses de 1mg/kg (GT1), 4mg/kg (GT4) ou de 1mg/kg associado a 0,2 mg/kg de ivermectina (GT1+Ive).....	73
Tabela 4-	Avaliação da claudicação em equinos submetidos a administração de cloridrato de tramadol por sonda nasogástrica nas doses de 1mg/kg (GT1), 4mg/kg (GT4) ou de 1mg/kg associado a 0,2 mg/kg de ivermectina (GT1+Ive).....	78
Tabela 5-	Avaliação da temperatura corpórea (°C) de equinos submetidos a administração de cloridrato de tramadol por sonda nasogástrica nas doses de 1mg/kg (GT1), 4mg/kg (GT4) ou de 1mg/kg associado a 0,2 mg/kg de ivermectina (GT1+Ive).....	80

## SUMÁRIO

**RESUMO**

**ABSTRACT**

**LISTA DE FIGURAS**

**LISTA DE TABELAS**

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>16</b>
<b>2. JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>18</b>
<b>3. OBJETIVOS.....</b>	<b>18</b>
<b>4. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>19</b>
<b>4.1. Introdução.....</b>	<b>19</b>
<b>4.2. Tramadol.....</b>	<b>21</b>
<b>4.3. Gene de Resistência à Múltiplas Drogas (MDR1) e Glicoproteína P.....</b>	<b>28</b>
<b>5. ARTIGO.....</b>	<b>35</b>
<b>6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>56</b>
<b>7. BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>57</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A dor é um processo complexo gerado a partir da ativação de receptores específicos, de alto limiar, os nociceptores. Estes receptores mandam sinais elétricos para o sistema nervoso e medula espinhal, produzindo assim respostas de proteção (dor), evitando dessa forma a lesão tecidual, ajudando o organismo a manter sua integridade (MUIR, 2010). Quando da estimulação excessiva dos nociceptores, os mesmos causam sofrimento e efeitos deletérios ao organismo, sendo necessário o tratamento dessa resposta, evitando o agravamento do quadro (BAMBERGER et al., 1994).

Os processos que envolvem dor ou nocicepção são tratadas basicamente com fármacos de propriedades anti-inflamatórias, os quais não são efetivos para o controle da dor moderada a severa. Embora os opióides sejam considerados as substâncias analgésicas mais potentes para equinos, seu uso é limitado nesta espécie devido ao risco de efeitos adversos como excitação quando administrados pela via intravenosa (KAMERLING, 1998) e hipomotilidade (CARREGARO et al., 2006; CRUZ et al., 2011).

O cloridrato de tramadol (cloridrato (1RS, 2RS)-2-[(di-metilamino)-metil]-1-(3-metoxifenil)-ciclohexanol) é um analgésico de ação central (GIORGI et al., 2007), análogo sintético da codeína e morfina (SHIPTON, 2000), sendo usado como analgésico há duas décadas em humanos (DE LEO, 2009; BASTAMI et al., 2014), e diversos estudos vem sendo realizados em equinos, avaliando a sua farmacocinética e seu efeito analgésico (GIORGI et al., 2007; SHILO et al., 2007; DE LEO et al., 2009; GUEDES et al., 2014; FRANCO et al., 2014). O seu efeito analgésico clínico está estreitamente relacionado ao seu metabolismo, devido a diferente atividade analgésica de seus metabólitos, sendo citado o M1 como seu principal metabólito e 300 vezes mais potente para o receptor OP3 do que o tramadol (GARCIA-QUETGLAS et al., 2007; GIORGI et al., 2007).



A farmacocinética do tramadol tem sido investigado em diversas espécies animais (WU et al., 2001; TAO et al., 2002; KUKANICH & PAPICH, 2004; GIORGI et al., 2009a,b) e em humanos (WU et al., 2002), indicando diferenças interespecies na biotransformação (GIORGI et al., 2006). Por via oral, a biodisponibilidade do tramadol em equinos foi muito baixa, o que poderia excluir esta via de administração na espécie, além de existirem dados conflitantes entre alguns estudos. Essas diferenças, sugerem um outro mecanismo limitante da absorção do tramadol por essa via. Em humanos, há relato de que o tramadol é substrato para a Gp-P (SLANAR, 2007), o que pode ser fator limitante na absorção do tramadol.

A glicoproteína-P (Gp-P) funciona como uma bomba de efluxo celular, de maneira que, transporta ativamente xenobióticos do meio intracelular para o extracelular, sendo a energia proveniente da hidrólise do ATP permitindo o transporte contra gradiente de concentração (CORNWELL, 1991). A Gp-P possui ampla especificidade para substratos e transporta uma gama de fármacos, incluindo anti-histamínicos, opióides, imunossupressores e antimicrobianos, antiparasitários e anti-neoplásicos (TYDÉN et al., 2008).

Normalmente, a Gp-P é expressa em vários tecidos dos mamíferos, principalmente órgãos excretores, que inclui intestinos (LI et al., 1999), fígado, rins e barreira hematoencefálica, atuando como um mecanismo de proteção contra xenobióticos (CORDON-CARDO et al., 1989). Alterando assim, a farmacocinética dos fármacos pelo aumento ou facilitação da excreção do fármaco ou na disponibilidade para a biotransformação (FARDEL et al., 1996; ZHOU, 2008).

O interesse clínico nesta proteína tem aumentado devido aos mecanismos de superexpressão relacionados à resistência aos quimioterápicos, analgésicos e outras substâncias, influenciando a resposta terapêutica (XIE et al., 1999; SUN et al., 2004). A

inibição farmacológica da Gp-P testada em camundongos, homens e cães, demonstrou melhora na biodisponibilidade oral de fármacos substratos da proteína (THOMPSON, 2000; MEALEY, 2004).

## **2. JUSTIFICATIVA**

Justifica-se o estudo proposto uma vez que os equinos sofrem de desordens músculo esqueléticas que cursam com perda da performance e tempo excessivo com tratamentos, que ainda hoje são feitos na sua maioria com anti-inflamatórios, que não são efetivos para dores severas, sendo indicado o uso de opióides.

O uso de opióides agonistas em equinos ainda é restrito devido aos efeitos adversos observados como excitação (TOBIN, 1979a; TOBIN, 1979b, CARREGARO et al., 2006). Existe a possibilidade de associação aos sedativos agonistas alfa2-adrenérgicos, mas essa associação pode causar efeitos adversos duradouros como hipomotilidade (CRUZ et al., 2011). A administração oral é outra alternativa ao uso dessa classe farmacológica em humanos, e que pode ser uma vantajosa via para a terapia antálgica nos equinos, sendo descrita por GUEDES et al. (2012; 2014).

A expressão da Gp-P pelo gene de resistência a múltiplas drogas (MDR1) pode causar variabilidade na absorção oral de opióides. A expressão desta proteína no intestino de equinos foi descrita como uma barreira para a absorção de opióides como a metadona (LINARDI et al., 2012).

## **3. OBJETIVOS**

O presente estudo teve como objetivo demonstrar a presença do gene MDR1, através de cDNA, além de investigar as alterações fisiológicas e o efeito analgésico do cloridrato de tramadol administrado por via oral através de sonda nasogástrica em equinos e a interferência da Gp-P. Ademais, visou-se avaliar o efeito da ivermectina como inibidor da Gp-P em equinos genotipicamente normais para o gene MDR1.

## **4. REVISÃO DE LITERATURA**

### **4.1. Introdução**

A natureza de trabalho, anatomia, peso, tamanho e velocidade dos equinos propiciam a inúmeras patologias ortopédicas como tendinites, artrites e micro fraturas o que, dependendo da situação, incapacita-os à atividade requerida. Em muitos casos não há sinais clínicos evidentes de desconforto. Com isso, há falha no tratamento e consequente agravamento do quadro (RAEKALLIO et al., 1997; HELLEBREKERS, 2002). As desordens musculoesqueléticas são as maiores responsáveis pela perda de performance nos equinos e pelos gastos significativos de dinheiro despendidos em diagnóstico e tentativas de tratamento. A inflamação e a dor são as consequências mais importantes relacionadas às injúrias musculoesqueléticas (HELLYER et al., 2007).

A dor é uma experiência complexa, a qual é normalmente ativada pela ativação de nociceptores, os quais são responsáveis pelo envio da sinalização periférica para a medula espinhal e cérebro, produzindo dessa forma respostas que avisam e protegem o organismo de lesões tissulares, mantendo assim a integridade e sobrevivência (MUIR, 2010). Diversos fatores podem influenciar a expressão e a experiência da dor, e dentre eles podemos citar a espécie, raça e variação individual, ambiente e fármacos empregados (FLECKNELL, 2000). Reconhecer e tratar a resposta a dor, não é apenas desejável para aliviar o sofrimento, como para evitar as respostas deletérias da mesma sobre o organismo (BAMBERGER et al., 1994).

As abordagens farmacológicas para o tratamento da dor em equinos, devem se basear no mecanismo de ação do fármaco e selecionadas o para objetivo específico, como inflamação ou lesão neural, para razões específicas (central ou periférica), de acordo com a severidade (leve, moderada ou severa) e tipo de dor (somática ou visceral), e formulada

para que se consiga o maior grau de sucesso possível, empregando dessa forma a analgesia multimodal, analgesia preventiva ou o resgate (MUIR, 2010).

Ainda hoje, a dor em equinos é tratada basicamente com fármacos de propriedades anti-inflamatórias, os quais não são efetivos para o controle da dor moderada a severa. Embora os opióides sejam considerados as substâncias analgésicas mais potentes para equinos, seu uso é limitado nesta espécie devido ao risco de efeitos adversos como excitação quando administrados pela via intravenosa (KAMERLING, 1998) e hipomotilidade (CARREGARO et al., 2006; CRUZ et al., 2011).

De acordo com Valverde & Gunkel (2005), a excitação é observada quando os opióides são administrados isoladamente e em animais sem dor. Segundo Tobin et al. (1979a, b) os opióides agonistas puros como, morfina, apomorfina e principalmente o fentanil podem provocar excitação, comprovada pela intensa atividade locomotora. A utilização de agonistas puros mais recentes também demonstrou o mesmo efeito, inviabilizando o uso isolado na maioria das situações (MAMA et al., 1993; PASCOE et al., 1993; HARKINS et al., 1997).

Atualmente, o reconhecimento e o correto manejo da dor em equinos, permanece um desafio apesar do grande número de estudos realizados nos últimos anos (SANCHES & ROBERTSON, 2014). Um dos pontos desfavoráveis para essa expansão está na dificuldade de caracterização do processo nociceptivo. A falta de familiaridade com a espécie em questão também contribui para tal fato (FLECKNELL, 1994; OTTO & SHORT, 1998; SHORT, 1998). Ademais, existem diversas particularidades entre as espécies em relação ao comportamento; diferenças essas que interferem diretamente na maneira em como cada animal responde ao processo doloroso, assim como a abordagem do clínico em cada situação (VALVERDE & GUNKEL, 2005).

A administração epidural de opióides hiperbáricos em equinos, apresenta-se como uma via segura e eficaz na terapia antálgica, não havendo aparecimento de efeitos cardiovasculares, respiratórios ou na atividade locomotora significativos, observados na administração sistêmica (NATALINI et al., 2006). A administração oral de opióides vem sendo pesquisada como uma possível via de administração em equinos, embora mais estudos sejam necessários para a correta avaliação farmacocinética e farmacodinâmica de tais substâncias na espécie (GIORGI et al., 2007; SHILO et al., 2007; LINARDI et al., 2009; GUEDES et al., 2014).

O uso de opióides em equinos pode ser justificado quando os benefícios de suas características analgésicas e sedativas prevalecerem sobre as desvantagens dos efeitos colaterais (CLUTTON, 2010). Infelizmente, ainda há restrição de alguns agentes analgésicos atualmente disponíveis devido à eficácia limitada e risco de efeitos colaterais indesejáveis, comprometendo dessa maneira uma analgesia eficaz para o tratamento da dor aguda ou crônica em equinos (CLARKE & PATON, 1988; BENNETT & STEFFEY, 2002; KNYCH et al., 2013a).

#### **4.2 Tramadol**

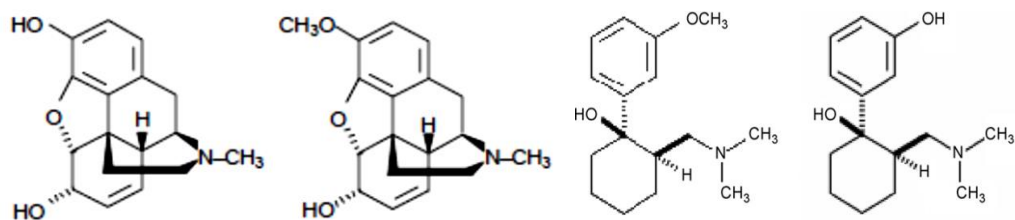
O cloridrato de tramadol (cloridrato (1RS, 2RS)-2-[(di-metilamino)-metil]-1-(3-metoxifenil)-ciclohexanol) é um analgésico de ação central (GIORGI et al., 2007), análogo sintético da codeína e morfina (SHIPTON, 2000), sendo usado como analgésico há duas décadas em humanos (DE LEO, 2009; BASTAMI et al., 2014), e diversos estudos vem sendo realizados em equinos, avaliando a sua farmacocinética e seu efeito analgésico (GIORGI et al., 2007; SHILO et al., 2007; DE LEO et al., 2009; GUEDES et al., 2014; FRANCO et al., 2014).

Ao contrário de outros opióides agonistas, o tramadol não é revertido totalmente pelo uso da naloxona, um antagonista opióide, fato que sugere outro mecanismo de ação

(LEE et al., 1993). O tramadol se liga a receptores opióides OP3 e delta ( $\delta$  ou OP1), além de possuir efeito pela interferência com a liberação e recaptação neuronal de noradrenalina e serotonina nas vias inibitórias descendentes (GIORGI et al., 2009a).

O cloridrato de tramadol é comercializado em uma mistura racêmica, sendo relatado que seus enantiômeros possuem atividades diferentes em humanos (SHILO et al., 2007). O tramadol (-) parece ter 10 vezes a potência do tramadol (+) quanto a inibição da captação de noradrenalina, estimulando receptores  $\alpha_2$  adrenérgicos, enquanto o tramadol (+) possui maior afinidade pelo receptor OP3 e inibi a captação de serotonina quatro vezes mais do que o tramadol (-), agindo de maneira sinérgica, aumentando o efeito analgésico, mas sem aumentar os efeitos colaterais (PAAR et al., 1992; RAFFA et al., 1993).

Assim como a codeína, o tramadol tem uma substituição metil na metade fenólica da estrutura da morfina, podendo explicar sua relativa baixa afinidade por receptores opióides (RAFFA et al., 1992). O tramadol possui seletividade por receptores  $\mu$  (OP3) sendo que o seu principal metabólito, O-desmetiltramadol (M1), possui maior afinidade para receptores opióides do que o tramadol (VLASE et al., 2008).



**Figura 1:** Estrutura química da morfina (esquerda), codeína (centro), tramadol e O-desmetiltramadol (direita).

Sua ligação com receptores opióides inibe a neurotransmissão dos neurônios aferentes primários (sensitivos), sendo mediados pela interação com os canais de potássio

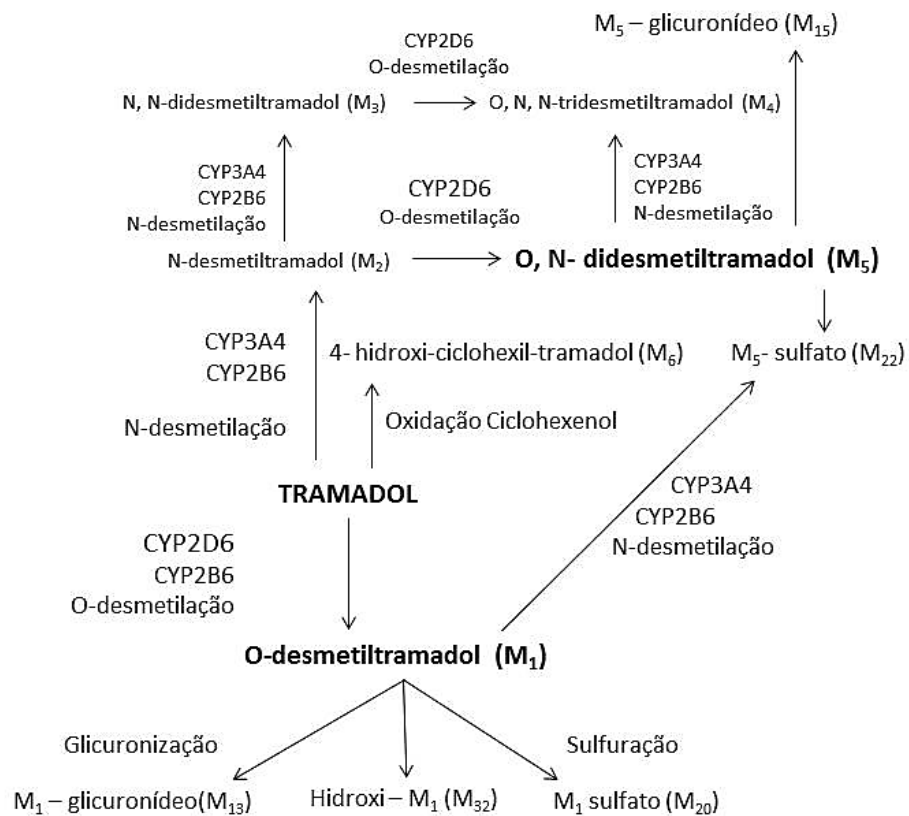
(K<sup>+</sup>) e cálcio (Ca<sup>2+</sup>) na membrana celular neuronal, prolongando a abertura dos canais de K<sup>+</sup>, hiperpolarizando a membrana ou inibindo a abertura dos canais de Ca<sup>2+</sup>, impedindo a liberação do neurotransmissor (WEBSTER, 2005).

O seu efeito analgésico clínico está estreitamente relacionado ao seu metabolismo, devido a diferente atividade analgésica de seus metabólitos, sendo citado o M1 como seu principal metabólito e 300 vezes mais potente para o receptor OP3 do que o tramadol (GARCIA-QUETGLAS et al., 2007; GIORGI et al., 2009a). A farmacocinética do tramadol tem sido investigado em diversas espécies animais (WU et al., 2001; TAO et al., 2002; KUKANICH & PAPICH, 2004; GIORGI et al., 2009 a,b) e em humanos (WU et al., 2002), indicando diferenças interespecies na biotransformação (GIORGI et al., 2006).

Primeiramente, ocorrem as reações de fase I (O- e N-desmetilação) principalmente, produzindo 11 metabólitos e posteriormente as reações de fase II (conjugação dos compostos O- e N-desmetilados), produzindo 12 metabólitos (LINTZ et al., 1981; WU et al., 2002; DICKMAN, 2007). Outros principais metabólitos com características analgésicas encontrados são o N-desmetiltramadol (M2), e em menor proporção N, N-didesmetiltramadol (M3), N, N, O-tridesmetiltramadol (M4) e N, O-desmetiltramadol (M5). Em estudo realizado com a administração intravenosa dos metabólitos M1 e M5 do tramadol, notou-se que M1, mas não M5 produziu efeito antinociceptivo intenso, indicando que M5 não penetra facilmente a barreira hematoencefálica (KÖGEL, 1999).

Em humanos, a principal via metabólica é a O-desmetilação (M1) catalisada pela isoenzima citocromo P450 (CYP) 2D6 e N-desmetilação pela CYP 2B6, e 3A4 (M2)

também primariamente envolvida na formação do M5 e M3, respectivamente (DE LEO et al., 2009).



**Figura 2:** Principais vias do metabolismo do cloridrato de tramadol e principais compostos em humanos (Adaptado e Traduzido de Leppert, 2011).

Em equinos o metabolismo também é hepático (STEWART et al., 2011), e também produzindo ao menos cinco metabólitos (GIORGI et al., 2007; DE LEO et al., 2009). Estudos recentes têm demonstrado que os equinos produzem mais M1, do que M2, mas que M1 é substancialmente e rapidamente conjugado (KNYCH et al., 2013a, b).

Diversos fármacos empregados em equinos são substratos para as isoenzimas do CYP 450. Em mamíferos, as famílias 1-3 das enzimas do CYP450, constituem aproximadamente 50% do total, sendo consideradas enzimas metabolizadoras de



xenobióticos (NEBERT & RUSSELL, 2002). As CYPs são expressas principalmente no fígado, mas diversas enzimas são expressas em tecidos extra-hepáticos, como intestino e trato respiratório, os quais, particularmente, estão em contato direto com xenobióticos (DING & KAMINSKY, 2003; TYDÉN et al., 2014). Foram clonadas e funcionalmente caracterizadas, três famílias do CYP450 em equinos, CYP2D50, CYP2C92 e CYP3A96, sendo relatado diferenças na capacidade metabólica dessas enzimas quando comparado com as enzimas ortologas em humanos, CYP2D6, CYP2C9 e CYP3A4, de aproximadamente 20 – 180 vezes menor (KNYCH & STANLEY, 2008; KNYCH et al., 2009; KNYCH; McKEMIE & STANLEY, 2010).

De acordo com Tydén et al. (2014), a expressão das enzimas da CYP no intestino delgado de equinos é maior que no intestino grosso, mas para a CYP2D; CYP2E, a expressão genica foi menor, quando comparada as outras enzimas CYP1A; CYP2C e praticamente ausente para CYP2A. E no fígado, a isoenzima CYP2D, a qual é considerada responsável pela biotransformação do tramadol, tem baixa expressão genica em equinos.

O modelo de dor empregado e a via de administração do tramadol também parece ter influência nos efeitos analgésicos observados (FRANCO et al., 2014). Em um estudo realizado por Mastrocinque & Fantoni (2003), foi realizado a comparação entre tramadol (2mg/kg) e morfina (0,2mg/kg) por via intravenosa como analgésico pós operatório em cadelas submetidas a ovariosalpingohisterectomia (OSH), e os autores concluíram que a analgesia do tramadol foi equivalente a morfina. Quando empregado por via epidural em equinos, o tramadol mostrou eficácia produzindo analgesia inferior e de menor duração que a morfina, mas com menor período de latência (NATALINI & ROBINSON, 2000). Por outro lado, quando do emprego do tramadol por via intravenosa e na dose de 2mg/kg,

o mesmo não produziu efeito analgésico em equinos submetidos a estímulo térmico (DHANJAL et al., 2009).

Em outro estudo com equinos, a administração por via oral de altas doses de tramadol (3, 6 e 9mg/kg), não produziu alterações no sistema respiratório e cardiovascular, e na atividade locomotora, atingindo concentração plasmática de 107 – 343ng/ml com a maior dose (KNYCH et al., 2013a). Estudo recente de KNYCH et al. (2013b) em equinos, os mesmos utilizaram doses de 0,5 a 3mg/kg por via intravenosa, observando uma concentração plasmática superior a aquela necessária para analgesia em humanos. De acordo com LEWIS & HAN (1997), a concentração plasmática terapêutica efetiva do tramadol está entre 100 e 300ng/ml, em humanos.

Em humanos, o tramadol é rapidamente absorvido e quase por completo, apresentando uma biodisponibilidade de 68% após administração oral única, e de 90 - 100% após múltiplas administrações, com o pico de concentração plasmática alcançada em 2 horas (LEWIS & HAN, 1997; VLASE et al., 2008), e aproximadamente 10 a 30% é excretada na forma inalterada pela urina (GROND et al., 1999). A biodisponibilidade reduzida após administração oral do tramadol, se deve ao efeito de primeira passagem hepático (NOBILIS et al., 2002), o qual é de 20 – 30% em humanos (LINTZ et al., 1986). Em outro estudo, notou-se que após administração retal a extensão da biodisponibilidade aumentou para 77% e para 100% após administração intramuscular (SCOTT & PERRY, 2000).

A biodisponibilidade do tramadol em equinos após a administração oral, foi muito baixa, o que poderia excluir esta via de administração na espécie, além de existirem dados conflitantes entre alguns estudos. Existem alguns fatores, como a interação fármaco-alimento, descrito para diversos fármacos (BOGAN et al., 1984; LEES et al., 1988), que

poderiam afetar a biodisponibilidade do tramadol. Entretanto, quando foi realizado jejum de 12 horas anterior à administração oral de 2 mg/kg de tramadol, com a finalidade de se evitar a interação com alimento, a concentração plasmática do tramadol foi muito baixa ( $33 \pm 21$  ng/ml) apresentando uma biodisponibilidade de  $3 \pm 2\%$  (SHILO et al., 2007), já em outro estudo, a biodisponibilidade encontrada foi de 84,6%, quando empregada a dose de 5mg/kg em equinos sem jejum (GIORGI et al., 2007).

A concentração plasmática mínima efetiva em humanos para o tramadol e O-desmetiltramadol (M1), é de 298 ( $\pm 171$ ) – 590 ( $\pm 410$ ) e 39,6 ( $\pm 29,5$ ) – 84 ( $\pm 34$ ) ng/ml, respectivamente no pós-operatório (LEHMANN et al., 1990). Em equinos, após administração oral, a concentração plasmática não ultrapassou 30 ng/ml (SHILO et al., 2007), em asininos, a concentração plasmática máxima do tramadol (2,5mg/kg) após administração oral foi de  $2817 \pm 441$  ng/ml e para o M2 foi de  $571 \pm 298$  ng/ml (GIORGI et al, 2009b), demonstrando diferenças entre as espécies.

A eficácia do tramadol não é muito diferente de outros fármacos com mecanismo de ação similar, como a buprenorfina (BONO & CUFFARI, 1997), mas com menor incidência de efeitos colaterais no sistema respiratório (VALLE et al., 1999). Por possuir atividade em receptores opióides  $\mu$ , o tramadol reduz a sensibilidade ao dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) no tronco cerebral, mas não deprime a resposta ventilatória a hipóxia e acredita-se não causar depressão respiratória significativa nas doses recomendadas (NIEUWENHUIJS et al., 2001).

Esses achados, sugerem um outro mecanismo limitante da absorção do tramadol por essa via. Em humanos, há relato de que o tramadol é substrato para a Gp-P (SLANAR, 2007), o que pode ser fator limitante na absorção do tramadol.

### 4.3. Gene de Resistência a Múltiplas Drogas (MDR) e Glicoproteína P

A eficácia de diversos fármacos depende da sua habilidade de atravessar a barreira celular, e desta forma alcançar seu local de ação. Fármacos lipofílicos podem cruzar as barreiras biológicas na ausência de sistemas de transportes especializados, já que se difundem livremente através da membrana plasmática. De maneira inversa, compostos hidrofílicos e carregados eletricamente geralmente necessitam de mecanismos de transportes para facilitar a passagem transcelular e captação celular, entretanto, a extensão da acumulação do fármaco no tecido não depende exclusivamente da sua habilidade de entrar na célula e sim em sua tendência de sair (CHAN et al., 2004).

Diversos fatores podem alterar a farmacocinética de um fármaco, interferindo na absorção, distribuição, biotransformação e excreção. Dentre os principais fatores que alteram a absorção na luz intestinal ou a capacidade dos fármacos em atravessarem as barreiras hematoencefálica e hematoplacentária, estão as propriedades físico-químicas do medicamento (pKa, peso molecular, lipossolubilidade, solubilidade, ionização) e fatores biológicos (tempo de esvaziamento gástrico e intestinal, pH, perfusão sanguínea das mucosas, ligação proteica) (LIN & YAMAZAKI, 2003). Outro fator limitante que possui um papel extremamente importante na absorção e na acumulação dos fármacos, são as bombas de efluxo, que podem conferir resistência à diversas substâncias potencialmente tóxicas ao organismo (CHAN et al., 2004).

A disposição farmacológica em equinos, é muitas vezes imprevisível devido aos fatores que contribuem para o fato de xenobióticos não serem bem caracterizados, tendo como exemplo a absorção oral de diversos fármacos, como antimicrobianos e anti-histamínicos, possuindo relatos de serem pobremente absorvidos em equinos quando comparado a outras espécies (TÖRNEKE et al., 2003; DAVIS et al., 2006; OLSÉN et al., 2007).

Além dos fatores já descritos na literatura capazes de influenciar a variabilidade interindividual relacionada à farmacocinética e farmacodinâmica de determinados fármacos (MIZUNO et al., 2003; SUN et al., 2004), o gene de resistência múltipla a drogas (MDR1), identificado em várias espécies animais e no homem, também participa dos processos da absorção, distribuição, metabolismo e excreção, alterando a disponibilidade de fármacos. O MDR1 expressa uma proteína de membrana denominada glicoproteína P (Gp-P), a qual é considerada um dos maiores determinantes de variação da absorção oral e biodisponibilidade de diversos fármacos (CUMMINS et al., 2003). A influência da presença deste gene MDR1 e da expressão da Gp-P, tem sido demonstrada por diversos estudos *in vitro* e *in vivo* (XIE et al., 1999; WANG et al., 2004).

O gene de resistência a múltiplas drogas, membro da superfamília adenosina trifosfato (ATP)- “*binding cassette*” (ALLER et al., 2009), também conhecido como gene ABCB1, codifica uma bomba proteica de efluxo transmembrana de 170kDa, chamada Gp-P (MEALEY, 2004), tendo aproximadamente 1280 aminoácidos (CORNWELL, 1991). Em 1976, Juliano e Ling conseguiram isolar uma glicoproteína de membrana em células ovarianas de hamster chinês resistentes a colchicina, sendo a primeira descrição da Gp-P.

A família ABCB da superfamília de transportadores ABC (*ATP-binding cassette*), representam a maior família de transportadores de membrana. Estas proteínas são expressas nos mais diversos organismos animais e vegetais (GUTMANN et al., 2009), sendo que já foram descritos cerca de 50 transportadores da superfamília ABC em humanos (DEAN et al., 2001). O transporte de substâncias contra o gradiente de concentração realizado pelos transportadores ABC, é realizado com uso de energia pela hidrólise de ATP, tendo como substratos diversas substâncias, dentre elas íons,

aminoácidos, carboidratos, peptídeos, proteínas e fosfolipídios. Dentre os transportadores desta superfamília, a Gp-P é a principal transportadora (COUTURE et al., 2006).

A Gp-P funciona como uma bomba de efluxo celular, de maneira que, transporta ativamente xenobióticos do meio intracelular para o extracelular, sendo a energia proveniente da hidrólise do ATP permitindo o transporte contra gradiente de concentração (CORNWELL, 1991). A Gp-P possui ampla especificidade para substratos e transporta uma gama de fármacos, incluindo anti-histamínicos, opióides, imunossupressores e antimicrobianos, antiparasitários e anti-neoplásicos (TYDÉN et al., 2008).

Internamente, a Gp-P possui uma grande cavidade que fica aberta para o citoplasma e para a camada lipídica interna da membrana. Existem dois portais na proteína, que são locais de ligação para os substratos serem transportados. A proteína permite acesso de substratos hidrofóbicos diretamente da membrana, durante sua difusão para o interior da célula (ALLER et al., 2009). De maneira similar, substâncias anfipáticas também são interceptadas durante sua passagem pela membrana celular, sendo removidas da célula antes mesmo de atingirem o citoplasma. Esse mecanismo propicia um acúmulo das substâncias transportadas na interface lipídio-agua da porção externa da membrana (GUTMANN et al., 2009).

A Gp-P pode interagir com diversos compostos estruturalmente diferentes, sugerindo múltiplos sítios de ligação. De acordo com as interações, estes compostos podem ser classificados de três maneiras: substratos, inibidores e moduladores. Os substratos, são aqueles ativamente transportados pela Gp-P, enquanto aqueles que comprometem a função de transporte são classificados como inibidores. Os substratos moduladores não interagem com os mesmos sítios de ligação dos substratos, mas reduzem a afinidade dos substratos a proteína, sendo efeito biológico dos inibidores e moduladores muito similar (CHEN et al., 2012).

O verapamil é um substrato para o transportador e inibem a função de transporte de modo competitivo sem interromper o ciclo catalítico da Gp-P. Outros agentes moduladores, como a ciclosporina A, inibem o transporte por interferirem com o reconhecimento do substrato e a hidrólise de ATP. Pelo fato de alguns fármacos inibidores serem substratos para a bomba, altas concentrações destes compostos podem ser necessárias para permitir o acúmulo de drogas citotóxicas em células que “superexpressam” a Gp-P (MORINI et al., 2008).

Alguns protocolos quimioterápicos fazem uso desse princípio, utilizando concomitantemente fármacos inibidores, como a ivermectina, aumentando a concentração do fármaco na célula tumoral (POULIOT et al., 1997). A potência dos inibidores normalmente depende da droga citotóxica para a qual a resistência está sendo sensibilizada (MORINI et al., 2008). Em um estudo realizado por Kukanich et al. (2005), foi utilizado o cetoconazol como inibidor da Gp-P na administração de metadona, a qual é substrato, e este mostrou-se fraco inibidor, elevando a absorção de metadona em apenas um dos cães experimentais.

Existe uma diversa gama de substratos para a Gp-P, tão pequenos quanto 330 daltons (Da) até 4000 Da, incluindo antiparasitários, antineoplásicos, glicocorticoides, analgésicos e glicosídeos cardíacos (BAARS et al., 2008). A maioria dos substratos para a Gp-P são hidrofóbicos, sendo que vários possuem anéis aromáticos (ALLER et al., 2009). A relevância da Gp-P na farmacocinética e disposição de diversos fármacos, são demonstrados em estudos, pois sua expressão limita o acesso das medicações ao tecido alvo e interfere com a absorção intestinal quando administrados pela via oral (MEALEY, 2004; KUKANICH et al., 2005).

Normalmente, a Gp-P é expressa em vários tecidos dos mamíferos, principalmente órgãos excretores, que inclui intestinos (LI et al., 1999), fígado, rins e

barreira hematoencefálica, atuando como um mecanismo de proteção contra xenobióticos (CORDON-CARDO et al., 1989). Alterando assim, a farmacocinética dos fármacos pelo aumento ou facilitação da excreção do fármaco ou na disponibilidade para a biotransformação (FARDEL et al., 1996; ZHOU, 2008).

Conforme a localização anatômica, a função da Gp-P pode ocorrer em três estágios: 1 – a Gp-P limita a absorção de fármacos administrados por via oral, por sua expressão nos enterócitos; 2 – após absorção do fármaco, a Gp-P promove sua eliminação pela bile ou rins, por sua expressão nas membranas dos canalículos biliares e na membrana luminal do túbulo proximal dos néfrons; 3 – uma vez atingida a célula alvo, a Gp-P limita a concentração do fármaco nas células (FROMM, 2004)

É conhecido que a Gp-P pode apresentar maior influência em todos os aspectos da disposição dos fármacos, dependendo do fármaco envolvido (MEALEY, 2004). A maioria dos fármacos envolvidos no MDR são produtos naturais derivados de plantas ou derivados sintéticos de compostos naturais e micro-organismos, com diversas estruturas químicas, mas que comumente apresentam uma região hidrofóbica e carga positiva em pH fisiológico (FARDEL et al., 1996).

Estudos demonstram que a maioria dos compostos que não são substratos da Gp-P possuem em sua estrutura até quatro aceptores de ligações de hidrogênio (N+O), peso molecular de até 400 KDa e possuem pKa menor que 8 (KERNS & DI, 2008). De acordo com Takano et al. (2006) os compostos que apresentam duas de quatro das seguintes características tem pobre absorção intestinal: peso molecular maior que 500; número de doadores de hidrogênio maior que 5 (grupo O-H ou N-H); número de aceptores de hidrogênio maior que 10 (O ou H) e pKa maior que 5. Devido às características do tramadol, o mesmo é substrato para a Gp-P afetando a sua farmacocinética em humanos (SLANAR et al., 2007).



Ademais, devido a sua alta expressão na mucosa intestinal, a Gp-P funciona como uma barreira primária para a absorção de fármacos no intestino delgado, limitando dessa forma, a biodisponibilidade (BOUER et al., 1999; DEY et al., 2003; TAKANO et al., 2006). Por estarem presentes na membrana apical dos enterócitos, a Gp-P atua como uma bomba de efluxo ATP-dependente, secretando ativamente diversos compostos das células intestinais novamente para o lúmen (FARDEL et al., 1996; TAKANO et al., 2006).

O impacto clínico da Gp-P como proteína de transporte é amplamente reconhecido em animais (ZHOU, 2008) e sua regulação in vivo sugere mecanismos espécies específicos (FARDEL et al., 1996). Diferentes fatores podem alterar sua expressão e função, incluindo sinais fisiológicos, compostos endógenos, condições patológicas e fatores externos (ZHOU, 2008).

O interesse clínico nesta proteína tem aumentado devido aos mecanismos de superexpressão relacionados à resistência aos quimioterápicos, analgésicos e outras substâncias, influenciando a resposta terapêutica (XIE et al., 1999; SUN et al., 2004). A inibição farmacológica da Gp-P testada em camundongos, homens e cães, demonstrou melhora na biodisponibilidade oral de fármacos substratos da proteína (THOMPSON, 2000; MEALEY, 2004).

Da mesma forma, a função alterada do gene MDR1 e da Gp-P também pode ser negativa clinicamente. A função alterada da Gp-P não está associada a características fenotípicas, e sim a deficiência, polimorfismo ou na mutação do gene MDR1, podendo aumentar as concentrações plasmáticas de fármacos, causar intoxicações e susceptibilidade a doenças (MEALEY, 2004). Mutações tem sido identificada em cães, mas ainda não se tem nenhum relato de alterações do gene MDR1 e Gp-P em equinos. O gene MDR1 e a sua expressão, tem sido estudado no sistema digestório, buscando assim

determinar o impacto da presença da Gp-P na absorção, disponibilidade e efeitos de alguns fármacos (LINARDI, 2012).

## **5. Artigo**

**Administração do tramadol via nasogástrica e seus efeitos em equinos submetidos à ivermectina como inibidor da Gp-p entérica**

*Tramadol administration by nasogastric route and its effects in horses submitted to ivermectin as enteric P-gp inhibitor*

**Fernando Silvério Ferreira da Cruz<sup>I</sup>; Claudio Correa Natalini<sup>II</sup>; Bruna Favieiro Pellin de Molnar<sup>III</sup>; Priscila Beatriz da Silva Serpa<sup>III</sup>; Tainor de Mesquita Tissoti<sup>III</sup>; Monica Midon<sup>III</sup>; Flávio Desessards de La Côte<sup>IV</sup>**

## **RESUMO**

O estudo teve como objetivo detectar o gene MDR1 a partir do cDNA, e avaliar as alterações fisiológicas e o grau de claudicação em equinos recebendo tramadol e submetidos a inibição da Gp-P entérica pela ivermectina. Seis equinos foram distribuídos aleatoriamente em três grupos, os quais receberam duas doses diferentes de tramadol por sonda nasogástrica 1 mg/kg (GT1), 4 mg/kg (GT4) e recebendo tramadol 1mg/kg associado a ivermectina 0,2mg/kg VO (GT1+Ive), com intervalo de 1 semana entre eles. Avaliou-se FC, *f*, motilidade intestinal, temperatura corpórea e o grau de claudicação por 360 min. Os parâmetros hemogasométricos foram avaliados no momento 0, 60 min e 120 min. Não foram observadas diferenças na FC e no grau de claudicação. Houve hipomotilidade no GT1 e GT4 apenas ao final das avaliações e aumento da *f* em todos os grupos. Conclui-se que a inibição da Gp-P entérica pela ivermectina não alterou os efeitos do tramadol nas doses estudadas, sugerindo que o mesmo não é substrato para Gp-P, mas estudos futuros devem ser realizados a fim de avaliar a interação da ivermectina como inibidor da Gp-P na farmacocinética do tramadol.

Palavras-Chave: Tramadol; Ivermectina; Glicoproteína P; Equinos; Claudicação

## **ABSTRACT**

---

<sup>I</sup> Programa de Pós Graduação em Medicina Animal: Equinos, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS. Av. Bento Gonçalves, 9090, Porto Alegre, RS, Brasil. CEP 91540-000. Email: [fernandosfcruz@hotmail.com](mailto:fernandosfcruz@hotmail.com). Autor para correspondência.

<sup>II</sup> University of Adelaide, School of Animal and Veterinary Sciences. Companion Animal Health Centre Roseworthy, AS, Austrália.

<sup>III</sup> Laboratório de Farmacogenética Animal – LAFA. Faculdade de Veterinária. Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Porto Alegre, RS, Brasil.

<sup>IV</sup> Departamento de Clínica de Grandes Animais, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Campus Camobi, Santa Maria, RS, Brasil.

*This study aimed to detect the MDR1 gene from cDNA, evaluate the physiological effects and the degree of lameness in horses produced by tramadol and submitted to inhibition of P-Gp enteric by ivermectin. Six horses were randomly distributed into three groups, which received two different doses of tramadol by nasogastric tube 1 mg/kg (GT1), 4 mg/kg (GT4) and receiving tramadol 1mg/kg associated with ivermectin 0.2 mg/kg PO (GT1 + Ive), with one week interval between. HR, RR, intestinal motility, body temperature and the degree of lameness were evaluated for 360 min. The blood gas parameters were evaluated at 0, 60 min and 120 min. There were no differences in HR and degree of lameness. Hypomotility occurred in GT1 and GT4 only at the end of evaluation period and RR increased in all groups. We conclude that inhibition of enteric P-Gp by ivermectin did not alter the effects of tramadol, suggesting that it is not a substrate for P-Gp, but future studies should be conducted to assess the interaction of ivermectin as inhibitor of P-Gp on the pharmacokinetics of tramadol.*

Key-Words: Tramadol; Ivermectin; P-Glycoprotein; Horses; Lameness

## **INTRODUÇÃO**

O cloridrato de tramadol (cloridrato (1RS, 2RS)-2-[(di-metilamino)-metil]-1-(3-metoxifenil)-ciclohexanol) é um analgésico de ação central (GIORGI et al., 2007), análogo sintético da codeína e morfina (SHIPTON, 2000), sendo usado como analgésico há duas décadas em humanos (DE LEO, 2009). O seu efeito analgésico clínico está estreitamente relacionado ao seu metabolismo, devido a diferente atividade analgésica de seus metabólitos, sendo citado o O-desmetiltramadol (M1) como seu principal metabólito e 300 vezes mais potente para o receptor OP3 do que o tramadol (GIORGI et al., 2007). A farmacocinética do tramadol tem sido investigado em diversas espécies animais (WU et al., 2001; TAO et al., 2002; KUKANICH & PAPICH, 2004; GIORGI et al., 2009b) e em humanos (WU et al., 2002), indicando diferenças interespecies na biotransformação (GIORGI et al., 2007). Estudos recentes demonstraram que os equinos produzem mais M1, do que M2, mas que M1 é substancialmente e rapidamente conjugado (KNYCH et al., 2013a,b). Ademais, a biodisponibilidade do tramadol após a administração oral em

equinos, tem demonstrado resultados discrepantes, o que poderia excluir esta via de administração na espécie. Essa diferença, sugere um outro mecanismo limitante da absorção do tramadol por essa via. Em humanos, há relato de que o tramadol é substrato para a Gp-P (SLANAR, 2007), o que pode ser fator limitante na absorção do tramadol. O gene MDR1 expressa uma proteína de membrana denominada glicoproteína P (Gp-P), a qual é considerada um dos maiores determinantes de variação da absorção oral e biodisponibilidade de diversos fármacos (CUMMINS et al., 2003). A Gp-P funciona como uma bomba de efluxo celular, de maneira que, transporta ativamente xenobióticos do meio intracelular para o extracelular, sendo a energia proveniente da hidrólise do ATP permitindo o transporte contra gradiente de concentração (CORNWELL, 1991). A Gp-P possui ampla especificidade para substratos e transporta uma gama de fármacos, incluindo anti-histamínicos, opióides, imunossupressores, antimicrobianos, antiparasitários e anti-neoplásicos (TYDÉN et al., 2008). Alguns fármacos substratos podem atuar como inibidores da Gp-P, por atuarem comprometendo a função de transporte, como a ivermectina (POULIOT et al., 1997). Normalmente, a Gp-P é expressa em vários tecidos dos mamíferos, principalmente órgãos excretores, que inclui intestinos (LI et al., 1999), fígado, rins e barreira hematoencefálica, atuando como um mecanismo de proteção contra xenobióticos (CORDON-CARDO et al., 1989), alterando assim, a farmacocinética dos fármacos pelo aumento ou facilitação da excreção do fármaco ou na disponibilidade para a biotransformação (ZHOU, 2008). Devido a sua alta expressão na mucosa intestinal, a Gp-P funciona como uma barreira primária para a absorção de fármacos no intestino delgado, limitando dessa forma, a biodisponibilidade, secretando ativamente diversos compostos das células intestinais novamente para o lúmen (TAKANO et al., 2006). O presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos do

cloridrato de tramadol administrado por sonda nasogástrica em equinos submetidos a inibição da Gp-P entérica.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O estudo foi realizado em duas partes, o estudo *in vitro* e *in vivo*. O estudo *in vitro* foi desenvolvido no Laboratório de Farmacogenética Animal do Departamento de Farmacologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS e o estudo *in vivo* na Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS. O presente estudo foi aprovado pelo comitê de ética no uso de animais (CEUA) sob o protocolo de número 006/2013.

**Animais** - Seis equinos adultos (3 fêmeas e 3 machos), sem raça definida, considerados clinicamente sadios após exame clínico e hemograma, pesando  $447,5 \pm 68,3$  foram utilizados. Os animais não receberam nenhum tipo de medicação por um período de três semanas anterior ao experimento, sendo mantidos a pasto com capim “coast-cross” (*Cynodon dactylon*) e água *ad libitum* e, adicionalmente, fornecida ração comercial e aveia, duas vezes ao dia, e feno de alfafa (*Medicago Sativa*) a noite. Não foi realizado jejum anterior ao experimento, mas durante a realização do experimento os animais permaneceram em jejum por duas horas. Os animais eram pesados no dia do experimento a fim de se evitar alterações nas doses administradas.

### **Estudo *In vitro***

**Extração RNAm e Detecção do Gene MDR1 (ABCB1)** - Para a extração de RNAm, foram colhidos 5 ml de sangue da veia jugular esquerda após antissepsia com álcool 70%,

em tubo de ensaio vacutainer<sup>®V</sup> com ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) com auxílio de agulha vacutainer<sup>®</sup> para coleta múltipla 25x8 e posteriormente centrifugados por 10 minutos a 4.000 rotações por minuto para separação da capa leucocitária, a qual foi aspirada em volume aproximado de 200µl. Após a centrifugação, a amostra foi processada de acordo com Kit<sup>®VI</sup> comercial. Realizada a extração de RNAm, as amostras foram então convertidas em cDNA por Reação em Cadeia da Polimerase – Transcriptase Reversa (RT - PCR) utilizando kit<sup>VII</sup> de conversão comercial e congeladas a -22°C para posterior realização da reação em cadeia da polimerase (PCR).

**Reação em Cadeia da Polimerase** - Para realização do PCR foi preparado uma solução, em volume total de 25 µl, onde foram adicionados 5 µl de DNA (≈200ng), tampão 1x (20mM Tris-HCL ph 8,4, 50 mM KCl), 3 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,4 mM dNTP, 0,4 µl de cada primer e 1 U Taq DNA polimerase<sup>VIII</sup>. Os primers utilizados foram desenvolvidos a partir do cDNA descrito para equinos (NATALINI & LINARDI, 2005) onde: 5´- GGG ACA AAA GGA GCG AGG GCA -3´ (forward) e 5´- GAG CCC GGC GAG AGT AAG GC -3´ (reverse). A amostra foi então processada no termociclador<sup>IX</sup> para amplificação do DNA onde iniciava-se com um ciclo de desnaturação inicial de 94°C por 4 minutos, seguido de 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 30 segundos, posterior anelamento a 58°C por 1 minuto e extensão a 72°C por 1 minuto. A especificidade da amplificação foi determinada por eletroforese em gel agarose 1% para confirmação da presença do gene MDR1.

### **Estudo *In vivo***

---

<sup>V</sup> Bencton & Dickison Diagnostics. São Paulo, SP, Brasil.

<sup>VI</sup> Promega Biotecnologia do Brasil. São Paulo, SP, Brasil.

<sup>VII</sup> Invitrogen Life Technologies. São Paulo, SP, Brasil.

<sup>VIII</sup> Taq DNA polymerase. Invitrogen – Thermo Fisher Scientific. Carlsbad, CA, USA.

<sup>IX</sup> Veriti<sup>®</sup> - Applied Biosystems – Life Technologies Corporation. Carlsbad, CA, USA.

**Delimitação Experimental** – Os animais foram distribuídos em três grupos autocontroles, eliminando assim a variação individual. Desse modo, foram dispostos em tratamento tramadol<sup>X</sup> 1 (GT1), onde os animais receberam 1 mg/kg de cloridrato de tramadol e tratamento tramadol 4 (GT4) recebendo 4 mg/kg de cloridrato de tramadol e tratamento tramadol mais ivermectina<sup>XI</sup> (GT1+Ive), os quais receberam a dose de 1 mg/kg de cloridrato de tramadol acrescido da ivermectina na dose de 0,2 mg/kg administrada via oral na forma de pasta, 24 horas antes a realização do experimento. O tramadol foi administrado em cápsulas por sonda nasogástrica, sendo posteriormente realizada a administração de 500 ml de água para lavagem da sonda. Os animais foram dispostos nos grupos de modo aleatório e por sorteio, em um modelo “crossover”. O intervalo entre tratamentos não foi inferior a sete dias.

Na manhã do experimento, os animais eram conduzidos ao tronco de contenção e monitorados, mensurando-se os parâmetros 30 minutos (-30) e imediatamente antes (tempo 0) da administração de tramadol para determinação dos valores basais e aos 30min, 60min, 90min, 120min e a cada 60 min até 360 min. Os animais foram submetidos à monitoração cardiorrespiratória, onde a frequência (FC), em batimentos por minuto (bpm), foi avaliada por estetoscopia entre 3° e 5° espaço intercostal. A frequência respiratória (*f*) foi mensurada por visualização do gradil costal, em movimentos por minuto (mpm). Ademais, analisou-se os parâmetros hemogasométricos por meio de coleta de sangue da artéria facial transversa. Para isso, foi realizada anestesia local com lidocaína a 2% sem vasoconstritor<sup>XII</sup> subcutânea e posteriormente aspirada uma amostra de 1 ml de sangue, acondicionado em seringa de 1 ml previamente heparinizada.

---

<sup>X</sup> Tramal 50mg Cápsulas – Searle Pakistan Ltda. Karachi, Pakistan.

<sup>XI</sup> Eqvalan® pasta - Merial Saúde Animal, Campinas, SP, Brasil.

<sup>XII</sup> Xylestesin® 2% com vasoconstritor. Cristália Produtos Químicos e Farmaceuticos LTDA. Itapira, SP, Brasil.



Imediatamente após a colheita, as amostras foram analisadas e os valores obtidos por meio de leitor hemogasométrico<sup>XIII</sup>, nos momentos 0, 60 e 120 minutos. Determinou-se pH, tensão arterial de CO<sub>2</sub> (PaCO<sub>2</sub>), tensão arterial de O<sub>2</sub> (PaO<sub>2</sub>), saturação de hemoglobina (SaO<sub>2</sub>) e concentrações de sódio (Na<sup>+</sup>), potássio (K<sup>+</sup>), cálcio (Ca<sup>++</sup>) e bicarbonato (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>). A avaliação da motilidade intestinal foi obtida por estetoscopia abdominal. Para isso, o flanco lateral direito foi dividido em duas porções, avaliando-se a abertura da válvula íleo-cecal, na fossa paralombar (porção dorsal) e o cólon ventral direito, próximo ao rebordo das últimas três costelas. No lado esquerdo, avaliou-se a motilidade do cólon dorsal, na porção caudal da fossa paralombar e o cólon ventral, na porção ventral do abdome.

Cada quadrante foi auscultado por no mínimo um minuto, com um intervalo de poucos segundos entre eles, sendo dada uma pontuação subjetiva para cada quadrante, onde: (0 - ausência de som; 1 - sons tipo crepitação, pouco audíveis e abafados, com frequência de uma vez por minuto; 2 - sons tipo crepitação, pouco audíveis e abafados, com frequência de duas vezes por minuto; 3 - sons tipo borboríngos, bem audíveis, com frequência de uma vez por minuto; 4 - sons tipo borboríngos, bem audíveis, com frequência maior que duas vezes por minuto). As auscultações foram realizadas por apenas um indivíduo. Após isso, as pontuações eram somadas, recebendo valores entre 0, ou seja, parada completa dos movimentos intestinais, e 16, atestando motilidade normal.

A temperatura corpórea foi mensurada através de termômetro digital<sup>XIV</sup> inserido no reto, em graus Celsius (°C). O efeito analgésico do cloridrato de tramadol foi mensurado através do modelo de dor solar, onde os animais foram ferrados em um

---

<sup>XIII</sup> i-STAT® - Abbott Point of Care Inc. Princeton, NJ, USA.

<sup>XIV</sup> Bencton & Dickison Diagnostics. São Paulo, SP, Brasil.

membro com ferradura modificada (Figura 16), de acordo com Schumacher et al. (2001), e no outro com ferradura normal. A ferradura modificada continha uma barra soldada ao bordo interno, ficando dessa maneira sobreposta à região da ranilha, onde foram realizados dois orifícios com rosca para parafuso de 10 milímetros (mm) de diâmetro. Os parafusos eram colocados na ferradura apenas no momento da avaliação, e então aparafusados até encostarem à sola para avaliação do grau de claudicação nos momentos 0 min, 30min, 60min, 90min, 120min e a cada 60 min até 360 min, sendo após removidos após cada avaliação.

O grau de claudicação foi avaliado com escala numérica de acordo com a American Association of Equine Practitioners (AAEP, 2006), onde: **Grau 0**: claudicação imperceptível sob qualquer circunstância; **Grau 1**: claudicação não observada ao passo, dificilmente reconhecida ao trote; **Grau 2**: claudicação dificilmente reconhecida ao passo, evidente ao trote em algumas situações (círculos, inclinação, superfície duras); **Grau 3**: claudicação óbvia ao passo e ao trote em todas as situações; **Grau 4**: claudicação grave, acentuada inclinação cabeça, passada presa e/ou encurtada; **Grau 5**: claudicação grave, mínima sustentação peso, inabilidade de locomoção.

Os animais eram filmados ao passo e ao trote sem a colocação dos parafusos, para posteriormente indução de claudicação, nível 3, e novamente filmados para posterior determinação do grau de claudicação por um observador com conhecimento na área, cego ao estudo. Ao término dos momentos de avaliação, os animais eram inspecionados quanto a sinais de claudicação e lesões que poderiam ter sido causadas e prontamente tratadas, além da remoção das ferraduras. O animal era ferrado somente no dia anterior ao experimento.

A análise estatística foi realizada utilizando o programa GraphPad Prism 4<sup>xv</sup>. Para as variáveis paramétricas FC, *f* e parâmetros hemogasométricos empregou-se análise de variância (ANOVA) para amostras repetidas, com posterior teste de Dunnet para comparações de médias dentro de cada grupo em relação ao tempo 0 minuto. Para comparações entre os grupos, em cada momento, realizou-se ANOVA, seguido de teste de Tukey. Para as variáveis não paramétricas foi utilizado ANOVA de duas vias para mensurações repetidas e posterior teste de Wilcoxon e Bonferroni para amostras pareadas. As diferenças foram consideradas significantes quando  $P < 0,05$ . Todos os resultados paramétricos estão expressos em média  $\pm$  desvio padrão. As pontuações correspondentes à motilidade intestinal e ao grau de claudicação estão expressas em mediana  $\pm$  intervalo interquartil.

## RESULTADOS

Em todos os animais, a presença do gene MDR1 foi confirmada pela análise de cDNA.

Não foram observados efeitos colaterais, como excitação, sedação ou aumento da atividade locomotora, produzidos pela administração do tramadol. A frequência cardíaca permaneceu inalterada por todo o período de avaliação, não apresentando diferenças. Para frequência respiratória foram observadas diferenças estatísticas em todos os grupos, ocorrendo um leve aumento nos valores, quando comparados ao basal. Na comparação entre os grupos, GT1 e GT4 não diferiram entre si em nenhum momento, enquanto GT1+Ive diferiu de GT1 e GT4 entre 0 min e 240 min, como observado na tabela 1.

---

<sup>xv</sup> GraphPad Prism, GraphPad Software Inc, San Diego, CA, USA.

Os sons gastrointestinais reduziram caracterizando hipomotilidade em GT1 e GT4, sendo observado em GT1 dos 180 aos 360 min e em GT1+Ive aos 240 e 360min, quando comparados ao basal. Na avaliação intergrupos, apenas GT4 diferiu do GT1 aos 240 e 360 min (Tabela 2). Todos os animais defecaram ao menos uma vez, durante o período de avaliação e as fezes apresentaram consistência normal, não havendo sinais de desconforto.

Em relação ao pH e aos gases sanguíneos não foram observadas alterações, tanto em relação aos parâmetros basais quanto entre grupos ao longo das mensurações. Diferenças foram observadas no  $K^+$ , onde notou-se redução em GT4 aos 60 e 120 min e no GT1+Ive aos 120 min, não havendo diferença entre os grupos, no  $Ca^{++}$ , o qual reduziu apenas aos 120 min no GT4 e GT1+Ive e no  $HCO_3^-$ , o qual apresentou um aumento no G4 aos 60 min e no GT1+Ive aos 120 min (Tabela 3).

Não houve alterações significativas na análise da claudicação, não sendo observada diferença estatística como observado na tabela 4.

Quanto a avaliação da temperatura corpórea não houve variações significantes, permanecendo estável e dentro da variação fisiológica da espécie por todo o período de avaliação.

## **DISCUSSÃO**

O tramadol por ser um analgésico de estrutura química similar a morfina e codeína, poderia provocar estimulação do sistema nervoso central (SNC), efeito comumente observado em equinos quando do uso da morfina (CLUTTON, 2010) ou de outros opióides, como buprenorfina (CARREGARO et al., 2006) e metadona (OLIVEIRA et al., 2014). O efeito excitatório também não parece ser exclusivo dos

receptores OP3, visto que agentes agonistas-antagonistas como o butorfanol e agonistas parciais como a buprenorfina também aumentam a atividade locomotora espontânea (CARREGARO et al., 2006). Em outros estudos onde empregou-se o tramadol, foram observados efeitos colaterais como tremores musculares (SHILO et al., 2007), agitação e taquicardia (GIORGI et al., 2007), sendo esses efeitos atribuídos a alta concentração do fármaco em receptores opióides centrais após administração intravenosa rápida.

Neste estudo, não foi observado nenhum efeito colateral relacionado a excitação ou aumento da atividade locomotora, resultado provavelmente da administração oral, uma vez que esta via permite um aumento gradual na concentração plasmática ou ausência de níveis plasmáticos que possam produzir efeitos excitatórios do SNC. Em outras espécies quando da administração por via oral, também não foram observados efeitos colaterais (KUKANICH & PAPICH, 2004; GIORGI et al., 2009a,b). Essa característica, pode ter contribuído também na ausência de efeitos sobre a frequência cardíaca e respiratória, pois com a utilização de opióides observa-se na maioria das espécies depressão do sistema cardiovascular, com hipotensão, bradicardia e diminuição do débito cardíaco, decorrentes da liberação de histamina, aumento do tônus vagal e redução do tônus simpático (GUEDES et al., 2006; BATEMAN, 2007).

Em equinos, taquicardia, hipertensão e aumento do débito cardíaco são alterações encontradas, resultantes da estimulação central (CARREGARO et al., 2006). A ausência de efeitos excitatórios e de alterações cardiorrespiratórias, pode estar relacionado à baixa afinidade do tramadol ao receptor OP3 e da via de administração, visto que em outros estudos, os efeitos excitatórios foram observados imediatamente após a administração intravenosa, e quando se fez a administração em infusão lenta não ocorreu efeito estimulante (SHILO et al., 2007; KNYCH et al., 2013; FRANCO et al., 2014). O aumento observado na frequência respiratória, pode ter ocorrido decorrente da temperatura

ambiente, visto que a fase experimental aconteceu ao longo da manhã, sob temperaturas elevadas.

Observou-se oscilação do  $\text{HCO}_3^-$  em todos os grupos, mas somente aos 60 minutos do GT4 e aos 120 minutos no GT1+Ive houve aumento significativo. Provavelmente esse fato pode ter ocorrido em resposta a alimentação dos animais anteriormente ao estudo. Houve redução na motilidade intestinal, havendo hipomotilidade apenas a partir dos 180 minutos em GT1 e aos 240 e 360 minutos no GT1+Ive, mas sem diferença entre tratamentos. De Luca & Coupar (1996), relatam que os opióides induzem hiperpolarização e redução na liberação de acetilcolina e outros neurotransmissores pela ativação dos canais de  $\text{K}^+$  ou inibição dos canais de  $\text{Ca}^+$  tipo N, mediados pelos receptores pré-sinápticos nos neurônios intrínsecos no plexo mioentérico, ou por mecanismos monoaminérgicos (WILDER-SMITH & BETTIGA, 1997). A diferença estatística no presente estudo pode ser decorrente dos valores encontrados na avaliação de três animais no GT1, que apresentaram valores muito abaixo dos demais animais. Apesar de não estar descrito nas tabelas, a motilidade voltou ao normal após 8 horas.

Os resultados mostram que o tramadol não produziu ou não foi eficaz como analgésico nas doses empregadas e no modelo de dor utilizado no presente estudo. Na literatura existem diferenças quanto ao efeito analgésico do tramadol, onde Natalini & Robinson (2000) observaram efeito analgésico em equinos quando da administração por via epidural, enquanto Guedes et al. (2012), demonstraram efeito analgésico limitado do tramadol quando administrado por via oral, quando em associação a cetamina, não sendo efetivo quando administrado isoladamente. Ademais, há estudos mostrando que o tramadol não promove analgesia quando administrado por via intravenosa (DHANJAL et al., 2009; FRANCO et al., 2014). Pesquisas demonstraram resultados variáveis quanto a biodisponibilidade, concentração plasmática e na produção de metabólitos em equinos

por via oral (GIORGI et al., 2007; SHILO et al., 2008; COX et al., 2010; KNYCH et al., 2013; GUEDES et al., 2014). O efeito analgésico do tramadol por via epidural pode ser decorrente da sua administração próxima ao local de ação, enquanto os resultados inconstantes da administração por outras vias, se dá pelas diferenças na absorção e biotransformação, havendo ainda relato em humanos de que o tramadol é substrato para a Gp-P (SLANAR et al., 2007), fator limitante na absorção de fármacos.

A Gp-P desempenha um importante papel na farmacocinética dos fármacos que são substratos da mesma (MEALEY, 2004), podendo dessa forma estar correlacionada com a grande variabilidade de resultados encontrados, devido a expressão da Gp-P na mucosa intestinal. Pode-se realizar a modulação da Gp-P por interação entre fármacos, quando dois fármacos são substratos e competem pelo mesmo sitio de ligação ou quando há a administração concomitante de um inibidor da Gp-P (HASSAN et al., 2009). Quando realizada a inibição da Gp-P em camundongos, homem e cães, ficou demonstrado a melhora na biodisponibilidade de fármacos substratos desta proteína (MEALEY, 2004; KUKANICH et al., 2005). Os dados encontrados no presente estudo, sugerem que o tramadol não seja substrato da Gp-P, indicando que os resultados encontrados em outros estudos, são decorrentes principalmente da sua biotransformação.

A ausência de diferença significativa entre os tratamentos no efeito analgésico, pode ainda estar relacionada à cinética de ordem zero do tramadol, não havendo aumento da analgesia conforme aumento da dose (UDDIN et al., 2012; HOLFORD et al., 2014).

Outro fator é a isoenzima CYP2D, a qual parece ser a principal responsável pela biotransformação do tramadol, possui baixa expressão gênica no intestino delgado de equinos (TYDÉN et al., 2014), o qual poderia ser um importante fator limitante na extensão da biotransformação do tramadol em O-desmetiltramadol. Entretanto, KNYCH et al. (2013), demonstraram que os cavalos realizam a biotransformação de maneira muito

eficiente do tramadol em M1, mas que o metabólito é rapidamente conjugado com ácido glicurônico, podendo limitar a sua disponibilidade para efeito agonista em receptores opióides. Achado esse, também demonstrado por Guedes et al. (2014), os quais encontraram altas concentrações de M1 conjugado quando comparado ao não conjugado. O metabólito M1 na forma não conjugada, é ativo e parece ser o principal responsável pela analgesia do tramadol em humanos (SCOTTY & PERRY, 2000).

De acordo com Cox et al. (2010), as diferenças nas formulações empregadas por via oral também podem representar um fator importante na extensão da absorção do fármaco e com isso alterar a farmacocinética, sendo observado em estudos o uso de capsulas esmagadas (SHILO et al., 2007), pó (COX et al., 2010), capsulas (GIORGI et al., 2007) e comprimidos esmagados (KNYCH et al., 2013; GUEDES et al., 2014).

Devido à grande variação do pH gástrico equino (1,3 – 6,8) e uma dieta rica em fibras, a absorção em grande parte do intestino delgado é pobre, particularmente para bases fracas, as quais o pKa interfere na sua dissolução. Consequentemente, uma grande parte da absorção de fármacos em equinos, se dá no intestino grosso (BAGGOT & BROWN, 1998). O tramadol é uma base fraca, com pKa de 9,41, podendo se dissociar muito lentamente e ter sua absorção reduzida, além de ser hidrossolúvel com coeficiente de partição óleo/água 1.35 em pH 7 (DrugBank). Outra característica dos equinos, é que a absorção tende a ser mais variável e ocorre em duas fases, permitindo que os compostos passem do estômago para o ceco, reduzindo o efeito de primeira passagem, além de possuírem maior capacidade de biotransformação hepática de substâncias lipofílicas (BAGGOT & BROWN, 1998), com isso a absorção do tramadol de liberação imediata pode sofrer alteração na sua disposição farmacocinética.

## **CONCLUSÃO**



Conclui-se que a inibição da Gp-P entérica pela ivermectina não alterou a ação analgésica do tramadol nas doses estudadas, sugerindo que o mesmo não é substrato para Gp-P, mas estudos futuros devem ser realizados a fim de avaliar a interação da ivermectina como inibidor da Gp-P na farmacocinética do tramadol.

## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

GIORGI, M.; SOLDANI, G.; MANERA, C.; FERRARINI, PL.; SGORBINI, M. & SACCOMANNI, G. 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.

SHIPTON, E. A. Tramadol – Present and Future. **Anaesthesia and Intensive Care**, v. 28, n.4, p. 363 – 374, 2000.

DE LEO, M.; GIORGI, M.; SACCOMANNI, G.; MANERA, C. & BRACA, A. Evaluation of tramadol and its min metabolites in horse plasma by high-performance liquid chromatography/fluorescence and liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry techniques. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 23, n. 2, p. 228-236, 2009.

SHILO, Y.; BRITZI, M.; EYTAN, B.; LIFSCHITZ, T.; SOBACK, S. & STEINMAN, A. Pharmacokinetics of tramadol in horses after intravenous, intramuscular and oral administration. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 31, n. 1, p. 60 – 65, 2007.

PAAR, W. D.; FRANKUS, P. & DENGLER, H. J. The metabolism of tramadol by human liver microsomes. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 70, n. 8, p. 708-710, 1992.

RAFFA, R.B.; FRIDERICHS, E.; REIMANN, W.; SHANK, R.P.; CODD, E.E.; VAUGHT, J.L.; JACOBY, H.I. & SELVE, N. Complementary and synergistic antinociceptive interaction between the enantiomers of tramadol. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 267, n.1, p.331-40, 1993.

GARCIA-QUETGLAS, E., AZANZA, J. R.; SÁDABA, B.; MUÑOZ, M. J.; GIL, I. & CAMPANERO, M.A. Pharmacokinetics of tramadol enantiomers and their respective phase I metabolites in relation to CYP2D6 phenotype. **Pharmacological Research**, v.55, n.2, p. 122-130, 2007.

WU, W. N.; MCKOWN, L. A.; GAUTHIER, A. D.; JONES, W. J. & RAFFA, R. B. Metabolism of the analgesic drug, tramadol hydrochloride, in rat and dog. **Xenobiotica**, v.31, n.7, p. 423 – 441, 2001.

TAO, Q., STONE, D.J., BORENSTEIN, M.R., CODD, E.E., COOGAN, T.P., DESAI-KRIEGER, D., LIAO, S. & RAFFA, R.B. Differential tramadol and O-desmethyl metabolite levels in brain vs. plasma of mice and rats administered tramadol hydrochloride orally. **Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics**, v. 27, n. 2, p. 99–106, 2002.

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 – 246, 2004.

WU, W. N.; MCKOWN, L. A. & LIAO, S. Metabolism of the analgesic drug ULTRAM (tramadol hydrochloride) in humans: API-MS and MS/MS characterization of metabolites. **Xenobiotica**, v. 32, n. 5, p. 411–425, 2002.

GIORGI, M.; SACCOMANI, G.; DANIELLO, M.R.; MANERA, C.; SOLDANI, G.; FERRARINI, P.L. & GIUSANI, M. In vitro metabolism of tramadol in horses: preliminary data. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v.29, n.3, p. 124, 2006.

KNICH, H.K.; CORADO, C.R.; MCKEMIE, D.S.; SCHOLTZ, E.; SAMS, R. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of tramadol in horses following oral administration. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**. v. 36, n.4, p. 389 – 398, 2013a.

KNYCH, H.K.; CORADO, C.R.; MCKEMIE, D. S.; STEFFEY, E.P. Pharmacokinetics and selectd pharmacodynamic effects of tramadol following intravenous administration to the horse. **Equine Veterinary Journal**. v. 45, n. 4, p. 490 – 496, 2013b.

SLANAR, O.; NOBILIS, M.; KVĚTINA, J.; MATOUSKOVÁ, O.; IDLLE, J.R.; PERLÍK, F. Pharmacokinetics of tramadol is affected by MDR1 polymorphism C3435T. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v. 63, n. 4, p. 419-421, 2007.

CUMMINS C.L.; SALPHATI, L.; REID, M.J.; BENET, L.Z. In vivo modulation of intestinal CYP3A metabolism by P-glycoprotein: studies using the rat single-pass intestinal perfusion model. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, Baltimore, v.305, n.1, p.306-314, 2003.

CORNWELL, M. M. Molecular Biology of P-glycoprotein. **Cancer Treatment and Research**, 57, p. 37-56, 1991.

TYDÉN, E.; TALLKVIST, J.; TJÄLVE, H. & LARSSON, P. P-glycoprotein in intestines, liver, kidney and lymphocytes in horse. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 32, n.2, p. 167-176, 2008.

POULIOT, J.F.; L'HEUREUX, F.; LIU, Z.; PRICHARD, R.K.; GEORGES, E. Reversal of P-glycoprotein-associated multidrug resistance by ivermectin. **Biochemical Pharmacology**. v. 53, n.1, p. 17 – 25, 1997.

LI, M.; HURREN, R., ZASTAWNY, R.L., LING, V., BUICK, R.N. Regulation and expression of multidrug resistance (MDR) transcripts in the intestinal epithelium. **British Journal of Cancer**, 80, n.8, p.1123-1131, 1999.

CORDON-CARDO, C., O'BRIEN, J.P., CASALS, D., RITTMAN-GRAUER, L., BIEDLER, J.L., MELAMED, M.R., BERTINO, J.R. Multidrug-resistance gene (P-glycoprotein) is expressed by endothelial cells at blood-brain barrier sites. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 86, n.2, p.695-698, 1989.

ZHOU, S.F. Structure, function and regulation of P-Glycoprotein and its clinical relevance in drug disposition. **Xenobiotica**, 38, n. 7-8, p. 802-832, 2008.

TAKANO, M.; YUMOTO, R.; MURAKAMI, T. Expression and function of efflux drug transporters in the intestine. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 109, n.1-2, p. 137-161, 2006.

NATALINI, C.C. & LINARDI, R.L. MDR1 sequence. GenBank, 2005.

SCHUMACHER, JOHN.; SCHUMACHER, JIM.; DEGRAVES, F.; STEIGER, R.; SCHRAMME, M.; SMITH, R. & COKER, M. A comparison of the effects of two volumes of local anesthetic in the distal interphalangeal joint of horses with lameness caused by solar toe or solar heel pain. **Equine Veterinary Journal**, v. 33, p. 265-268, 2001.

AAEP. Guide for Veterinary Service and Judging of Equestrian Events (ed 4). **American Association of Equine Practitioners**, Lexington, KY, p. 19, 2006.

CLUTTON, R.E. Opioid analgesia in horses. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 26, n.3, p. 493-514, 2010.

CARREGARO, A.B.; TEIXEIRA-NETO, F.J.; BEIER, S.L.; LUNA, S.P.L. Cardiopulmonary effects of buprenorphine in horses. **American Journal of Veterinary Medicine**, v.67, n.10, p.1675-1680, 2006.

OLIVEIRA, F.A.; PIGNATON, W.; TEIXEIRA-NETO, F.J.; QUEIROZ-NETO, A.; PUOLI-FILHO, J.N.P.; SCOGNAMILLO, M.V.R.; VIVEIROS, B.M.; LUNA, S.P.L. Antinociceptive and Behavioral Effects of Methadone Alone or in Combination with Detomidine in Conscious Horses. **Journal of Equine Veterinary Science**. v. 34, p. 380 – 386, 2014.

GIORGI, M.; DEL CARIO, S.; SGORBINI, M. & SACCOMANNI G. 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.9, n.5, p. 569-574, 2009a.

GIORGI, M.; SACCOMANI, G.; LEBKOWSKA-WIERUSZEWSKA, B.; KOWALSKI, C. 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, n.3, p. 253-255, 2009b.

GUEDES, A.G.P.; RUDÉ, E.P.; RIDER, M.A. Evaluation of histamine release during constant rate infusion of morphine in dogs. **Veterinary Anaesthesia Analgesia** v.33, n.1, p.28-35, 2006.

BATEMAN, D.N. Opioids. **Medicine**. v.35, n.12, p. 640-642, 2007.

FRANCO, L.G.; MORENO, J.C.D.; NETO, A.R.T.; SOUZA, M.C.; DA SILVA, L.A.F. Tramadol effects on clinical variables and the mechanical nociceptive threshold in horses. **Ciencia Rural**. v. 44, n.3, p. 517-523, 2014.

DE LUCA, A.; COUPAR, I.M. Insights into opioid action in the intestinal tract. **Pharmacology and Therapeutics**. v.69, n. 2, p. 103-115, 1996.

WILDER-SMITH, C.H. & BETTIGA, A. The analgesic tramadol has minimal effect on gastrointestinal motor function. **British Journal of Clinical Pharmacology**. v. 44, n.1, p. 71-75, 1997.

NATALINI, C.C; ROBINSON, E.P. Comparative evaluation of the analgesic effects of epidural morphine, alfentanil, butorphanol, tramadol, and U50488H in horses. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v.61, p.1579-1586, 2000.

GUEDES, A.G.P.; MATTHEWS, N.S.; HOOD, D.M. Effect of ketamine on the analgesic effects of tramadol hydrochloride in horses with signs of chronic laminitis-associated pain. **American Journal of Veterinary Research**. v. 73, n.5, p. 610-619, 2012. doi: 10.2460/ajvr.73.5.610

DHANJAL, J.K.; WILSON, D.V.; ROBINSON, E.; TOBIN, T.T.; DIROKULU, L. Intravenous tramadol: effects, nociceptive properties and pharmacokinetics in horses. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 36, p. 581-590, 2009.

COX, S.; VILLARINO, N.; DOHERTY, T. Determination of oral tramadol pharmacokinetics in horses. **Research in Veterinary Science**. v. 38, n.2, p. 236-241, 2010.

GUEDES, A.G.P.; KNYCH, H.K.; SOARES, J.H.N.; BROSNAN, R.J. Pharmacokinetics and physiological effects of repeated oral administrations of tramadol in horses. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**. v. 37, n. 3, p. 269-278, 2014.

MEALEY, K.L. Therapeutic implications of the MDR-1 gene. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, Baltimore, v.27, n. 5, p.257-264, 2004.

HASSAN, H.E.; MYERS, A.L.; COOP, A.; EDDINGTON, N.D. Differential involvement of P-glycoprotein (ABCB1) in permeability, tissue distribution, and antinociceptive activity of methadone, buprenorphine, and diprenorphine: In vitro and *In*

*vivo* evaluation. **Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 98, n.2, p. 4928-4949, 2009. DOI: 10.1002/jps.21770

KUKANICH, B.; LASCELLES, B.D.X.; AMAN, A.M.; MEALEY, K.L.; PAPICH, M.G. The effects of inhibiting cytochrome P450 3A, p-glycoprotein, and gastric acid secretion on the oral bioavailability of methadone in dogs. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**. v. 28, n. 5, p. 461-466, 2005. doi: 10.1111/j.1365-2885.2005.00681.x

TYDÉN, E.; TJÄLVE, H.; LARSSON, P. Gene and protein expression. and cellular localisation of cytochrome P450 enzymes of the 1A, 2A, 2C, 2D and 2E subfamilies in equine intestine and liver. **Acta Veterinaria Scandinavica**. v. 56, n. 1, p. 69-90, 2014. doi:10.1186/s13028-014-0069-8

SCOTT, L.J. & PERRY, C.M. Tramadol. **Drugs**. v. 60, n.1, p. 139-176, 2000.

DRUGBANK. <http://www.drugbank.ca/drugs/DB00193> Acesso em 25 de outubro de 2014.

BAGGOT, J.D. & BROWN, S.A. Basis for selection of the dosage form. In: HARDEE, G.E.; BAGGOT, J.D. (Eds.) *Development and Formulation of Veterinary Dosage Forms*, 2ed, Marcel Dekker, New York, p. 7 – 143, 1998.

UDDIN, A.; UDDIN, R.; ALAM, R.; RASHID, M.O.; REYAD, H. *In vitro* release kinetics study of tramadol HCl sustained release matrix tablete from HPMC K15M. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**. v. 3, n.12, p. 4975-4981, 2012.

HOLFORD, S.; ALLEGAERT, K.; ANDERSON, B.J.; KUKANICH, B.; SOUSA, A.B.; STEINMAN, A.; PYPENDOP, B.; MEHVAR, R.; GIORGI, M.; HOLFORD, N. Parent-Metabolite Pharmacokinetic Models for Tramadol – Tests of Assumptions and Predictions. **Journal of Pharmacology & Clinical Toxicology**. v. 2(1), p. 1023-1035, 2014.

## **6. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Diversos estudos estão sendo realizados com o emprego do tramadol na espécie equina, mas nenhum até o momento avaliou a relação do mesmo com a glicoproteína-P. O presente estudo teve como objetivo detectar o gene MDR1 em equinos e avaliar a possível interação do tramadol com a glicoproteína-P, através dos efeitos ocasionados

com a utilização do mesmo. Os resultados observados corroboram com outros estudos realizados, mostrando que os equinos expressam a Gp-P, a qual pode alterar a farmacocinética das substâncias e supõe-se que o cloridrato de tramadol não é substrato para mesma, em uma avaliação subjetiva. A real viabilidade do cloridrato de tramadol na espécie equina ainda deve ser avaliada, visto que a administração por diversas vias, como oral, intravenosa e intramuscular são ausentes de efeito analgésico, devendo-se determinar qual o real processo que inativa ou inviabiliza o uso do fármaco na espécie.

## **7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

AAEP. Guide for Veterinary Service and Judging of Equestrian Events (ed 4). **American Association of Equine Practitioners**, Lexington, KY, p. 19, 2006.

ALLER, S.G.; YU, J.; WARD, A.; WENG, A.; CHITTABOINA, S.; ZHUO, R.; HARRELL, P.M.; TRINH, Y.T.; ZHANG, Q.; URBATSCH, I.L.; CHANG, G. Structure



of P-glycoprotein reveals a molecular basis for poly-specific drug binding. **Science**. v. 323, n. 5922, p. 1718-1722, 2009. DOI:10.1126/science.1168750

BAARS, C.; LEEB, T.; VON KLOPMANN, T.; TIPOLD, A.; POTSCHKA, H. Allele-specific polymerase chain reaction diagnostic test for the functional MDR1 polymorphism in dogs. **The Veterinary Journal**. v. 177, p. 394-397, 2008.

BAGGOT, J.D. & BROWN, S.A. Basis for selection of the dosage form. In: HARDEE, G.E.; BAGGOT, J.D. (Eds.) *Development and Formulation of Veterinary Dosage Forms*, 2ed, Marcel Dekker, New York, p. 7 – 143, 1998.

BAMBERGER, A.H.; TANELIAN, D.L.; KLEIN, K. Pain management for the postoperative patient. **Texas Medicine**. v. 90, n.4, p-54-56, 1994.

BASTAMI, S.; HAAGE, P.; KRONSTRAND, R.; KUGELBERG, F.C.; ZACKRISSON, A.L.; UPPUGUNDURI, S. Pharmacogenetic aspects of tramadol pharmacokinetics and pharmacodynamics after a single oral dose. **Forensic Science International**. v. 238 (may), p. 125-132, 2014.

BATEMAN, D.N. Opioids. **Medicine**. v.35, n.12, p. 640-642, 2007.

BENNETT, R.C.; STEFFEY, E.P. Use of opioids for pain and anesthetic management in horses. **Veterinary Clinics of North America – Equine Practice**, v.18, p.47-60, 2002.

BOGAN, J.A., GALBRAITH, A., BAXTER, P., ALI, N.M. & MARRINER, S.E. Effect of feeding on the fate of orally administered phenylbutazone, trimethoprim and sulphadiazine in the horse. **Veterinary Record**, v. 115, p. 599–600, 1984.

BONO, A.V.; CUFARI, S. Effectiveness and tolerance of tramadol in cancer pain. A comparative study with respect to buprenorphine. **Drugs**, v. 53, suppl. 2, p. 40-49, 1997.

BOUER, R.; BARTHE, L.; PHILIBERT, C.; TOURNAIRE, C.; WOODLEY, J.; HOUIN, G. The roles of P-glycoprotein and intracellular metabolism in the intestinal absorption of methadone: in vitro studies using the rat everted intestinal sac. **Fundamental Clinical Pharmacology**, 13, p. 494-500, 1999.

CARREGARO, A.B.; TEIXEIRA-NETO, F.J.; BEIER, S.L.; LUNA, S.P.L. Cardiopulmonary effects of buprenorphine in horses. **American Journal of Veterinary Medicine**, v.67, n.10, p.1675-1680, 2006.

CHAN, L. M. S.; LOWES, S. & HIRST, B. H. The ABCs of drug transport in intestine and liver: efflux proteins limiting drug absorption and bioavailability. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 21, p. 25 – 51, 2004.

CHEN, L.; LI, Y.; YU, H.; ZHANG, L.; HOU, T. Computational models for predicting substrates or inhibitors of P-glycoprotein. **Drug Discovery Today**. v. 17, n. 7/8, 2012.

CLARKE K.W. & PATON B.S. Combined use of detomidine with opiates in the horse. **Equine Veterinary Journal**. 20 (Suppl 1): 331-334, 1988.

CLUTTON, R.E. Opioid analgesia in horses. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 26, n.3, p. 493-514, 2010.

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

CORDON-CARDO, C., O'BRIEN, J.P., CASALS, D., RITTMAN-GRAUER, L., BIEDLER, J.L., MELAMED, M.R., BERTINO, J.R. Multidrug-resistance gene (P-glycoprotein) is expressed by endothelial cells at blood-brain barrier sites. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 86, p.695-698, 1989.

CORNWELL, M. M. Molecular Biology of P-glycoprotein. **Cancer Treatment and Research**, 57, p. 37-56, 1991.

COUTURE, L.; NASH, J.A.; TURGEON, J. The ATP-Binding cassette transporters and their implication in drug disposition: A special look at the heart. **Pharmacological Reviews**. v. 58, n. 2, p. 244-258, 2006.

COX, S.; VILLARINO, N.; DOHERTY, T. Determination of oral tramadol pharmacokinetics in horses. **Research in Veterinary Science**. v. 38, n.2, p. 236-241, 2010.

CRUZ, F.S.F.; CARREGARO, A.B.; MACHADO, M.; ANTONOW, R.R. Sedative and cardiopulmonary effects of buprenorphine and xylazine in horses. **Canadian Journal of Veterinary Research**. v. 75 (1), p. 35-41, 2011.

CUMMINS C.L.; SALPHATI, L.; REID, M.J.; BENET, L.Z. In vivo modulation of intestinal CYP3A metabolism by P-glycoprotein: studies using the rat single-pass intestinal perfusion model. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, Baltimore, v.305, n.1, p.306-314, 2003.

DAVIS, J.L., LITTLE, D., BLIKSLAGER, A.T. & PAPICH, M.G. Mucosal permeability of water-soluble drugs in jejunum: a preliminar investigation. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 29, p. 379-385, 2006.

DE LEO, M.; GIORGI, M.; SACCOMANNI, G.; MANERA, C. & BRACA, A. 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 Communications in Mass Spectrometry**, v. 23, p. 228-236, 2009.

- DE LUCA, A.; COUPAR, I.M. Insights into opioid action in the intestinal tract. **Pharmacology and Therapeutics**. v.69, p. 103-115, 1996.
- DE SOUSA, A.B.; SANTOS, A.C.; SCHRAMM, S.G.; PORTA, V.; GÓRNIK, S.L.; FLORIO, J.C.; DE SOUZA SPINOSA, H. Pharmacokinetics of tramadol and O-desmethyltramadol in goats after intravenous and oral administration. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**. v. 31, p. 45-51, 2008.
- DEAN, M.; HAMOM, Y.; CHIMINI, G. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily. **Journal of Lipid Research**. v. 42, p. 1007-1017, 2001.
- DERKSEN, F.J.; OLSZEWSKI, M.A.; ROBINSON, N.E.; BERNEY, C.; HAKALA, J.E.; MATSON, C.J. & RUTH, D.T. Aerosolized albuterol sulfate used as a bronchodilator in horses with recurrent airway obstruction. **American Journal of Veterinary Research** v. 60, n. 6, p. 689-693, 1999.
- DEY, S.; PATEL, J.; ANAND, B.S.; JAIN-VAKKALAGADDA, B.; KALIKI, P.; PAL, D.; GANAPATHY, V.; MITRA, A.K. Molecular evidence and functional expression of P-glycoprotein (MDR1) in human and rabbit cornea and cornea epithelial cell lines. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**, 44, p. 2909-2918, 2003.
- DHANJAL, J.K.; WILSON, D.V.; ROBINSON, E.; TOBIN, T.T.; DIROKULU, L. Intravenous tramadol: effects, nociceptive properties and pharmacokinetics in horses. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 36, p. 581-590, 2009.
- DICKMAN A: Tramadol: a review of this atypical opioid. **European Journal of Palliative Care**, v. 14, p. 181–185, 2007
- DING, X.; KAMINSKY, L.S. Human extrahepatic Cytochromes P450: Function in xenobiotic metabolism and tissue-selective chemical toxicity in the respiratory and gastrointestinal tracts. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**. v. 43 (April), p. 149-173, 2003. DOI: 10.1146/annurev.pharmtox.43.100901.140251
- DRUGBANK. <http://www.drugbank.ca/drugs/DB00193> Acesso em 25 de outubro de 2014.
- DUTHIE, D. J. Remifentanyl and Tramadol. **British Journal of Anaesthesia**, v. 81, (1), p. 51 – 57, 1998.
- FARDEL, O., LECUREUR, V., GUILLOUZO, A. The P-Glycoprotein multidrug Transporter. **General Pharmacology**. V.27, n.8, p. 1283-1291, 1996.
- FLECKENELL P. & WATERMAN-PEARSON A. **Pain management in animals**. Philadelphia: Saunders, 184p. 2000.

FLECKNELL, P. Advances in the assessment and alleviation of pain in laboratory and domestic animals. **Journal of Veterinerinary Anaesthesia**, v.21, p.98-105, 1994.

FRANCO, L.G.; MORENO, J.C.D.; NETO, A.R.T.; SOUZA, M.C.; DA SILVA, L.A.F. Tramadol effects on clinical variables and the mechanical nociceptive threshold in horses. **Ciencia Rural**. v. 44, n.3, p. 517-523, 2014.

FROMM, M.F. Importance of P-glycoprotein at blood-tissue barriers. **Trends in Pharmacological Sciences**. v. 25, n. 8, p. 423-429, 2004.

GARCIA-QUETGLAS, E., AZANZA, J. R.; SÁDABA, B.; MUÑOZ, M. J.; GIL, I. & CAMPANERO, M.A. Pharmacokinetics of tramadol enantiomers and their respective phase I metabolites in relation to CYP2D6 phenotype. **Pharmacological Research**, p.122-30, v.55, 2007.

GIBALDI, M & PERRIER, D. **Pharmacokinetics**. 2<sup>a</sup> edição Ed. Marcel Dekker, New York, 1982.

GIORGI, M.; DEL CARIO, S.; SGORBINI, M. & SACCOMANNI G. 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.9, n.5, p. 569-574, 2009a.

GIORGI, M.; SACCOMANI, G.; LEBKOWSKA-WIERUSZEWSKA, B.; KOWALSKI, C. 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, n.3, p. 253-255, 2009b.

GIORGI, M.; SACCOMANI, G.; DANIELLO, M.R.; MANERA, C.; SOLDANI, G.; FERRARINI, P.L. & GIUSANI, M. In vitro metabolism of tramadol in horses: preliminary data. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v.29, n.3, p. 124, 2006.

GIORGI, M.; SACCOMANI, G.; DANIELLO, M.R.; MANERA, C.; SOLDANI, G.; FERRARINI, P.L. & GIUSANI, M. In vitro metabolism of tramadol in horses: preliminary data. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v.29, n.3, p. 124, 2006.

GIORGI, M.; SOLDANI, G.; MANERA, C.; FERRARINI, PL.; SGORBINI, M. & SACCOMANNI, G. 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.

GROND, S.; MEUSER, T.; URAGG, H.; STAHLBERG, H. J. & LEHMANN, K. A. Serum concentrations of tramadol enantiomers during patient-controlled analgesia. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 48, p. 254 – 257, 1999.

GUEDES, A.G.P.; KNYCH, H.K.; SOARES, J.H.N.; BROSNAN, R.J. Pharmacokinetics and physiological effects of repeated oral administrations of tramadol in horses. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**. v. 37, n. 3, p. 269-278, 2014.

GUEDES, A.G.P.; MATTHEWS, N.S.; HOOD, D.M. Effect of ketamine on the analgesic effects of tramadol hydrochloride in horses with signs of chronic laminitis-associated pain. **American Journal of Veterinary Research**. v. 73, n.5, p. 610-619, 2012. doi: 10.2460/ajvr.73.5.610

GUEDES, A.G.P.; RUDÉ, E.P.; RIDER, M.A. Evaluation of histamine release during constant rate infusion of morphine in dogs. **Veterinary Anaesthesia Analgesia**. v.33, p.28-35, 2006.

GUTMANN, D.A.P.; WARD, D.; URBATSCH, I.L.; CHANG, G. van VEEN. Understanding polyspecificity of multidrug ABC transporters: closing in on the gaps in ABCB1. **Trends in Biochemical Sciences**. v. 42, p. 1007-1017, 2001.

HARKINS, J.D.; QUEIROZ-NETO, A.; MUNDY, G.D.; WEST, D.; TOBIN, T. Development and characterization of an equine behaviour chamber and the effects of amitraz and detomidine on spontaneous locomotor activity. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**. v.20, p.396-401, 1997.

HASSAN, H.E.; MYERS, A.L.; COOP, A.; EDDINGTON, N.D. Differential involvement of P-glycoprotein (ABCB1) in permeability, tissue distribution, and antinociceptive activity of methadone, buprenorphine, and diprenorphine: In vitro and *In vivo* evaluation. **Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 98, n.2, p. 4928-4949, 2009. DOI: 10.1002/jps.21770

HELLEBREKERS L.J. **Dor em animais**. 1ª ed. São Paulo: Editora Manole Ltda, 2002, 166p.

HELLYER, P.W.; ROBERTSON, S.A.; FAILS, A.D. Pain and its management. In: TRANQUILLI, W.J.; THURMON, J.C.; GRIMM, K.A. **Lumb & Jones' Veterinary Anesthesia and Analgesia**. 4ª ed. Blackwell Publishing, p.31-57, 2007.

JULIANO, R.L. & LING, V. A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v.455, p.152-162, 1976.

KAMERLING S. Dose related effects of the kappa agonist U-50, 488H on behavior, nociception and autonomic response in the horse. **Equine Veterinary Journal**, Oxford, v.20, n.2, p.114-118, 1998.

KERNS, E.; DI, L. **Drug-Like Properties: Concepts, Structure Design and Methods From Adam To Toxicity Optimization**. Londres: Academic press, 2008, 552 pg.

KNICH, H.K.; CORADO, C.R.; MCKEMIE, D.S.; SCHOLTZ, E.; SAMS, R. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of tramadol in horses following oral administration. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**. v. 36 (4); p. 389 – 398, 2013a.

KNYCH, H.K.; CORADO, C.R.; MCKEMIE, D. S.; STEFFEY, E.P. Pharmacokinetics and selectd pharmacodynamic effects of tramadol following intravenous administration to the horse. **Equine Veterinary Journal**. v. 45, p. 490 – 496, 2013b.

KNYCH, H.K.D.; MCKEMIE, S.; STANLEY, S.D. Molecular cloning, expression., and initial characterization of members of the CYP3A Family in horses. **Drug Metabolism and Disposition**. v. 38, n. 10, p. 1820-1827, 2010. doi:10.1124/dmd.110.032953

KNYCH, H.K.D.; SHIELDS, C.D.S.; BUCKPITT, A.R. STANLEY, S.D. Equine cytochrome P450 2C92: cDNA cloning, expression. And initial characterization. **Archives of Biochemistry and Biophysics**. v. 485 (1), p. 49-55, 2009. doi: 10.1016/j.abb.2009.02.009.

KNYCH, H.K.D.; STANLEY, S.D. Complementary DNA cloning, functional expression. And characterization of a novel cytochrome P450, CYP2D50, from equine liver. **Biochemical Pharmacology**. v. 76, n. 7, p. 904-911, 2008.

KÖGEL, B.; ENGLBERGER, W.; HENNIES, H.H. & FRIDERICHS, E. Involvement of metabolites in the analgesic action of tramadol. **Proceedings of the 9th World Congress of Pain**, Viena, Austria, p. 523, 1999.

KUKANICH, B.; LASCELLES, B.D.X.; AMAN, A.M.; MEALEY, K.L.; PAPICH, M.G. The effects of inhibiting cytochrome P450 3A, p-glycoprotein, and gastric acid secretion on the oral bioavailability of methadone in dogs. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**. v. 28, n. 5, p. 461-466, 2005. doi: 10.1111/j.1365-2885.2005.00681.x

KUKANICH, B.; PAPICH, M.G. Pharmacokinetics of tramadol and the metabolite O-desmethyltramadol in dogs. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**. v. 27 (4), p. 239 – 246, 2004.

LEE C.R.; MCTAVISH D. & SORKIN E.M. Tramadol: A preliminar review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential in acute and chronic pain states. **Drugs**, 46, p. 313-340, 1993.

LEES, P.; TAYLOR, J. B. O.; HIGGINS, A. J.; & SEDQWICK, A. D. In vitro and in vivo binding of phenilbutazone and related drugs to equine feeds and digesta. **Research in Veterinary Science**, v. 44, p. 50 – 56, 1988.

LEHMANN, K.A.; SCHROEDER-BARK, U. & HORRICH-S-HAERMMEYER, G. Postoperative patient-controlled analgesia with tramadol: analgesic efficacy and minimum effective concentrations. **Clinical Journal of Pain**, v. 6, p. 212–220, 1990.

LEPPERT, W. CYP2D6 in the metabolism of opioids for mild to moderate pain. **Pharmacology**, v.87, p. 274 – 285, 2011.

LEWIS, K.S. & HAN, N.H. Tramadol: a new centrally acting analgesic. **American Journal of Health-System Pharmacy**, March 15, v. 54, n. 6, p. 643-652, 1997.

LI, M.; HURREN, R., ZASTAWNY, R.L., LING, V., BUICK, R.N. Regulation and expression of multidrug resistance (MDR) transcripts in the intestinal epithelium. **British Journal of Cancer**, 80, p.1123-1131, 1999.

LIN, J. H. & YAMAZAKI, M. Role of P-glycoprotein in pharmacokinetics: clinical implications. **Clinical Pharmacokinetics**, New York, v. 42, p. 59 – 98, 2003.

LINARDI, R.L.; STOKES, A.M.; BARKER, S.A.; SHORT, C.; HOSGOOD, G.; NATALINI, C.C. Pharmacokinetics of the injectable formulation of methadone hydrochloride administered orally in horses. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**. v.32, n. 5, p. 492-497, 2009.

LINARDI, R.L.; STOKES, A.M.; ANDREWS, F.M. The effect of P-Glycoprotein on methadone hydrochloride flux in equine intestinal mucosa. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**. v. 36, p. 43-50, 2012.

LINARDI, R.L.; STOKES, A.M.; KEOWEN, M.L.; BARKER, S.A.; HOSGOOD, G.L.; SORTH, C.R. Bioavailability and pharmacokinetics of oral and injectable formulation of methadone after intravenous, oral, and intragastric administration in horses. **American Journal of Veterinary Research**. v. 73(2), p. 290-295, 2012.

LINTZ, W.; ERLAÇIN, S.; FRANCUS, E. & URAGG, H. Biotransformation of tramadol in man and animal. **Arzneimittelforschung**. v.31, p. 1932–1943, 1981.

MAMA, K.R.; PASCOE, P.J.; STEFFEY, E.P. Evaluation of the interaction of mu and kappa opioid agonists on locomotor behavior in the horse. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v.57, p.106-9, 1993.

MASTROCINQUE, S. & FANTONI, D.T. A comparison of preoperative tramadol and morphine for the control of early postoperative pain in canine ovariohysterectomy. **Veterinary Anesthesia and Analgesia**, v. 30 (4), p. 220-228, 2003. DOI: 10.1046/j.1467-2995.2003.00090.x

MEALEY, K.L. Therapeutic implications of the MDR-1 gene. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, Baltimore, v.27, p.257-264, 2004.

MIZUNO, N.; NIWA, T.; YOTSUMOTO, Y.; SUGIYAMA, Y. Impact of drug transporter studies on drug discovery and development. **Pharmacological Reviews**. v.55, n.3, p.425-461, 2003.

MORINI, A.C.; MIGLINO, M.A.; CARVALHO, M.B.; MARTINS, D.S.; AMBRÓSIO, C.E.; CASAGRANDE, C.F.; CATELLI, A.A.; SOUZA, A.P.; LUPPI, M.M.C.P.; GAIAD, T.P.; ZATZ, M. Efeitos da ciclosporina A sobre a função renal de cães da raça Golden Retriever normais ou afetados pela distrofia muscular. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 45, n. 5, p. 371-378, 2008.

MUIR, W.W. Pain: mechanisms and management in horses. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**. v. 26 (3), p. 467-480, 2010. doi: 10.1016/j.cveq.2010.07.008.

NATALINI, C. C.; LINARDI, R. L. & POLYDORO, A. S. Subarachnoidally administered hyperbaric morphine, buprenorphine, methadone, and 10% dextrose on cardiopulmonary function and behavior in horses. **Ciência Rural**, v. 36, n. 5, p. 1444 – 1449, 2006.

NATALINI, C.C. & LINARDI, R.L. MDR1 sequence. GenBank, 2005.

NATALINI, C.C.; CUNHA, A.F. & LINARDI, R. L. Multi-drug resistance gene (MDR1) and opioid analgesia in horse. **Ciência Rural**, v. 36, n.1, p. 330-335, 2006.

NATALINI, C.C; ROBINSON, E.P. Comparative evaluation of the analgesic effects of epidural morphine, alfentanil, butorphanol, tramadol, and U50488H in horses. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v.61, p.1579-1586, 2000.

NEBERT, D.W.; RUSSELL, D.W. Clinical importance of the cytochromes P450. **The Lancet**. v. 360, n. 9340, p. 1155-1162, 2002.

NIEUWENHUIJS, D.; BRUCE, J.; DRUMMOND, G.B.; WARREN, P.M. & DAHAN, A. Influence of oral tramadol on the dynamic ventilatory response to carbon dioxide in health volunteers. **British Journal of Anaesthesia**, 87, p. 860-865, 2001.

NOBILIS, M.; KOPECKÝ, J.; KVETINA, J.; CHLÁDEK, J.; SVOBODA, Z.; VORÍSEK, V.; PERLÍK, F.; POUR, M. & KUNES, J. High-performance liquid chromatographic determination of tramadol and its O-desmethylated metabolite in blood plasma. Application to a bioequivalence study in humans. **Journal of Chromatography A**, 949, p. 11-22, 2002.

OLIVEIRA, F.A.; PIGNATON, W.; TEIXEIRA-NETO, F.J.; QUEIROZ-NETO, A.; PUOLI-FILHO, J.N.P.; SCOGNAMILLO, M.V.R.; VIVEIROS, B.M.; LUNA, S.P.L. Antinociceptive and Behavioral Effects of Methadone Alone or in Combination with Detomidine in Conscious Horses. **Journal of Equine Veterinary Science**. v. 34, p. 380 – 386, 2014.



OLSÉN, L., INGVAST-LARSSON, C., BONDESSON, U., BROSTRÖM, H., TJÄLVE, H. & LARSSON, P. Cetririzine in horses: pharmacokinetics and effect of ivermectin pretreatment. **The Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 30, p. 194–200, 2007.

OTTO, K.A.; SHORT, C.E. Pharmaceutical control of pain in large animals. **Applied Animal Behavior Science**, v.59, p.157-69, 1998.

PAAR, W. D.; FRANKUS, P. & DENGLER, H. J. The metabolism of tramadol by human liver microsomes. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 70, p. 708-710, 1992.

PASCOE, P.J.; BLACK, W.D.; CLAXTON, J.M.; SANSOM, R.E. The pharmacokinetics and locomotor activity of alfentanil in the horse. **The Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v.14, p.317-25, 1993.

POULIOT, J.F.; L'HEUREUX, F.; LIU, Z.; PRICHARD, R.K.; GEORGES, E. Reversal of P-glycoprotein-associated multidrug resistance by ivermectin. **Biochemical Pharmacology**. v. 53 (1), p. 17 – 25, 1997.

RAEKALLIO, M.; TAYLOR, P.M.; BENNETT, R.C. Preliminary investigations of pain and analgesia assessment in horses administered phenylbutazone or placebo after arthroscopic surgery. **Veterinary Surgery**, v.26, p.150-5, 1997.

RAFFA, R. B.; FRIDERICHS, E.; REIMANN, W.; SHANK, R. P.; CODD, E. E. & VAUGHT, J. L. Opioid and nonopioid components independently contribute to the mechanism of action of tramadol, an “atypical” opioid analgesic. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 260, p. 275-85, 1992.

RAFFA, R.B.; FRIDERICHS, E.; REIMANN, W.; SHANK, R.P.; CODD, E.E.; VAUGHT, J.L.; JACOBY, H.I. & SELVE, N. Complementary and synergistic antinociceptive interaction between the enantiomers of tramadol. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 267, p.331-40, 1993.

SANCHES, 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.

SCHUMACHER, JOHN.; SCHUMACHER, JIM.; DEGRAVES, F.; STEIGER, R.; SCHRAMME, M.; SMITH, R. & COKER, M. A comparison of the effects of two volumes of local anesthetic in the distal interphalangeal joint of horses with lameness caused by solar toe or solar heel pain. **Equine Veterinary Journal**, v. 33, p. 265-268, 2001.

SCOTT, J.J. & PERRY, C.M. Tramadol: a review of its use in perioperative pain. **Drugs**, July, v. 60, n.1, p. 139-176, 2000.

- SHILO, Y.; BRITZI, M.; EYTAN, B.; LIFSCHITZ, T.; SOBACK, S. & STEINMAN, A. Pharmacokinetics of tramadol in horses after intravenous, intramuscular and oral administration. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 31, p. 60 – 65, 2007.
- SHIPTON, E. A. Tramadol – Present and Future. **Anaesthesia and Intensive Care**, v. 28(4), p. 363 – 374, 2000.
- SHORT, C.E. Fundamentals of pain perception in animals. **Applied Animal Behavior Science**, v.59, p.125-33, 1998.
- SLANAR, O.; NOBILIS, M.; KVĚTINA, J.; MATOUSKOVÁ, O.; IDLLE, J.R.; PERLÍK, F. Pharmacokinetics of tramadol is affected by MDR1 polymorphism C3435T. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v. 63, p. 419-421, 2007.
- STEWART, A.J.; BOOTHE, D.M.; CRUZ-ESPINDOLA, C.; MITCHUM, E.J.; SPRINGFILED, J. 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. doi: 10.2460/ajvr.72.7.967
- SUN, J.; HE, Z.G.; CHENG, G.; WANG, S.J.; HAO, X.H. ZOU, M.J. Multidrug resistance P-glycoprotein: crucial significance in drug disposition and interaction. **Medical Science Monitor**, v.10, n.1, p.RA5-14, 2004.
- TAKANO, M.; YUMOTO, R.; MURAKAMI, T. Expression and function of efflux drug transporters in the intestine. **Pharmacology and Therapeutics**, 109, p. 137-161, 2006.
- TAO, Q., STONE, D.J., BORENSTEIN, M.R., CODD, E.E., COOGAN, T.P., DESAI-KRIEGER, D., LIAO, S. & RAFFA, R.B. Differential tramadol and O-desmethyl metabolite levels in brain vs. plasma of mice and rats administered tramadol hydrochloride orally. **Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics**, v. 27, p. 99–106, 2002.
- THOMPSON, S.J. Opiate-induced analgesia is increased and prolonged in mice lacking P-glycoprotein. **Anesthesiology**, Philadelphia, v.92, p.1392-1399, 2000.
- TOBIN, T.; COMBIE, J.; SHULTS, T.; DOUGHERTY, J. The Pharmacology of narcotic analgesics in the horse III. Characteristics of the locomotor effects of fentanyl and apomorphine. **Journal of Equine Medicine and Surgery**. v.3, p.284-8, 1979a.
- TOBIN, T.; COMBIE, J.; SHULTS, T. Pharmacology review: Actions of central stimulant drugs in the horse II. **Journal of Equine Medicine and Surgery**. v.3, p.102-9, 1979b.
- TÖRNEKE, K., INGVAST-LARSSON, C., PETTERSSON, K., BERGVALL, K., HDELAND, M., BONDESSON, U. & BROSTRÖM, H. Pharmacokinetics and

pharmacodynamics of clemastine in healthy horses. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 26, p. 151–157, 2003.

TYDÉN, E.; TALLKVIST, J.; TJÄLVE, H. & LARSSON, P. P-glycoprotein in intestines, liver, kidney and lymphocytes in horse. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 32, n.2, p. 167-176, 2008.

TYDÉN, E.; TJÄLVE, H.; LARSSON, P. Gene and protein expression. and cellular localisation of cytochrome P450 enzymes of the 1A, 2A, 2C, 2D and 2E subfamilies in equine intestine and liver. **Acta Veterinaria Scandinavica**. 56:69, 2014. doi:10.1186/s13028-014-0069-8

VALLE, M.; PAVÓN, J.M.; CALVO, R.; CAMPANERO, M.A. & TROCÓNIZ, I.F. Simultaneous determination of tramadol and its major active metabolite O-desmethyltramadol by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. **Journal of Chromatography B**, v.724, p. 83-89, 1999.

VALVERDE, A.; GUNKEL, C.I. Pain management in horses and farm animals. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**. v.15, p.295-307, 2005.

VLASE, L.; LEUCUTA, S. E. & IMRE, S. Determination of tramadol and O-desmetiltramadol in human plasma by high-performance liquid chromatography with mass spectrometry detection. **Talanta**, v.75, p. 1104-1109, 2008.

WAGNER, A.E. Effects of stress on pain in horses and incorporating pain scales for equine practice. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 26, n.3, p. 481-492, 2010.

WANG, J.S.; RUAN, Y.; TAYLOR, R.M.; DONOVAN, J.L.; MARKOWITZ, J.S.; DeVANE, C.L. Brain penetration of methadone (R)- and (S)-enantiomers is greatly increased by P-Glycoprotein deficiency in the blood-brain barrier of Abcb1a gene knockout mice. **Psychopharmacology**. v. 173 (1-2), p. 132-138, 2004.

WEBSTER, C.R.L. **Farmacologia Clínica em Medicina Veterinária**. São Paulo: Roca, 2005.

WILDER-SMITH, C.H. & BETTIGA, A. The analgesic tramadol has minimal effect on gastrointestinal motor function. **British Journal of Clinical Pharmacology**. v. 44, n.1, p. 71-75, 1997.

WU, W. N.; MCKOWN, L. A. & LIAO, S. Metabolism of the analgesic drug ULTRAM (tramadol hydrochloride) in humans: API-MS and MS/MS characterization of metabolites. **Xenobiotica**, v. 32, p. 411–425, 2002.

WU, W. N.; MCKOWN, L. A.; GAUTHIER, A. D.; JONES, W. J. & RAFFA, R. B. Metabolism of the analgesic drug, tramadol hydrochloride, in rat and dog. **Xenobiotica**, v.31(7), p. 423 – 441, 2001.

XIE, R.; HAMMARLUND-UDENAES, M.; de BOER, A.G.; de LANGE, E.C.M. The role of P-glycoprotein in blood-brain barrier transport of morphine: transcortical microdialysis studies in mdr1a (-/-) and mdr1b (+/+) mice. **British Journal of Pharmacology**, Oxford, v.128, p.563-568, 1999.

YOXALL, A. T. Pain in small animals- its recognition and control. **Journal of Small Animal Practice**, v. 19, p. 423 – 438, 1978.

ZHOU, S.F. Structure, function and regulation of P-Glycoprotein and its clinical relevance in drug disposition. **Xenobiotica**, 38, p. 802-832, 2008.

**Tabela 1- Avaliação da frequência cardíaca e respiratória de equinos submetidos a administração de cloridrato de tramadol por sonda nasogástrica nas doses de 1mg/kg (GT1), 4mg/kg (GT4) ou de 1mg/kg associado a 0,2 mg/kg de ivermectina (GT1+Ive). Valores dispostos em média (X) ± desvio padrão (DP).**

	Tempos (minutos)								
	0	30	60	90	120	180	240	300	360
<b>FC (bat/min)</b>									
GT1	38±4 <sup>a</sup>	40±6 <sup>a</sup>	38±5 <sup>a</sup>	38±4 <sup>a</sup>	39±4 <sup>a</sup>	38±2 <sup>a</sup>	38±2 <sup>a</sup>	38±2 <sup>a</sup>	38±5 <sup>a</sup>
GT4	37±2 <sup>a</sup>	37±4 <sup>a</sup>	38±2 <sup>a</sup>	38±2 <sup>a</sup>	38±2 <sup>a</sup>	37±4 <sup>a</sup>	38±2 <sup>a</sup>	37±3 <sup>a</sup>	38±3 <sup>a</sup>
GT+Ive	36±2 <sup>a</sup>	36±3 <sup>a</sup>	36±5 <sup>a</sup>	37±2 <sup>a</sup>	38±3 <sup>a</sup>	38±3 <sup>a</sup>	37±2 <sup>a</sup>	37±2 <sup>a</sup>	38±2 <sup>a</sup>
<b><i>f</i> (mov/min)</b>									
GT1	15±6 <sup>a</sup>	21±4 <sup>*a</sup>	19±2 <sup>a</sup>	22±4 <sup>*a</sup>	21±4 <sup>a</sup>	21±3 <sup>*a</sup>	21±3 <sup>a</sup>	20±2 <sup>a</sup>	18±4 <sup>a</sup>
GT4	14±4 <sup>ab</sup>	17±4 <sup>ab</sup>	18±6 <sup>*ab</sup>	21±5 <sup>**ab</sup>	21±6 <sup>**ab</sup>	19±4 <sup>*ab</sup>	18±5 <sup>*ab</sup>	19±5 <sup>*a</sup>	18±4 <sup>a</sup>
GT1+Ive	14±3 <sup>c</sup>	19±6 <sup>c</sup>	20±7 <sup>*c</sup>	20±7 <sup>**c</sup>	19±6 <sup>c</sup>	21±8 <sup>**c</sup>	19±4 <sup>c</sup>	22±9 <sup>**a</sup>	21±8 <sup>**a</sup>

Médias significantes: \* P<0,05; \*\*P<0,01 para comparações intra-grupo, segundo teste de Dunnett.

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si, para comparações inter-grupos, segundo teste de Tukey.

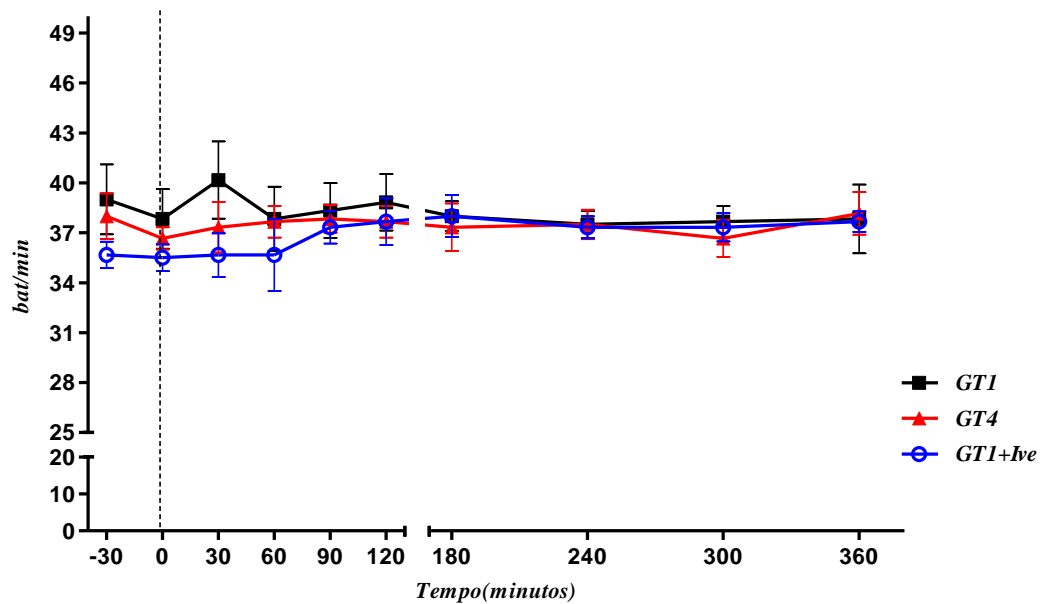


Figura 3- Avaliação da frequência cardíaca de equinos submetidos a administração de cloridrato de tramadol por sonda nasogástrica nas doses de 1mg/kg (GT1), 4mg/kg (GT4) ou de 1mg/kg associado a 0,2 mg/kg de ivermectina (GT1+Ive). Valores dispostos em média  $\pm$  desvio padrão.

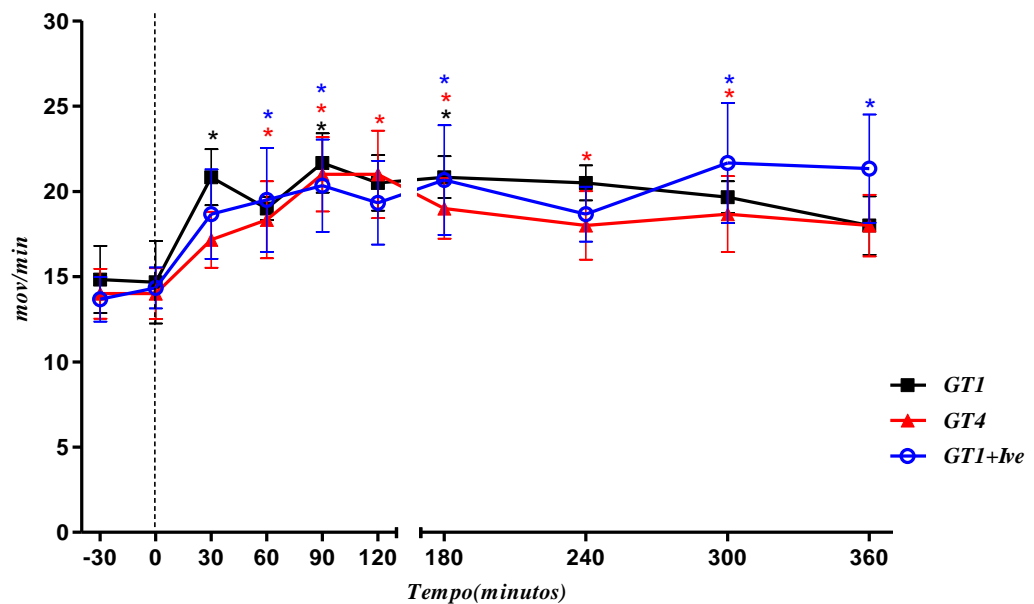


Figura 4- Avaliação da frequência respiratória de equinos submetidos a administração de cloridrato de tramadol por sonda nasogástrica nas doses de 1mg/kg (GT1), 4mg/kg (GT4) ou de 1mg/kg associado a 0,2 mg/kg de ivermectina (GT1+Ive). Valores dispostos em média  $\pm$  desvio padrão. \* Diferença entre o momento e seu basal (tempo 0).

**Tabela 2 – Avaliação da motilidade intestinal de equinos submetidos a administração de cloridrato de tramadol por sonda nasogástrica nas doses de 1mg/kg (GT1), 4mg/kg (GT4) ou de 1mg/kg associado a 0,2 mg/kg de ivermectina (GT+Ive). Valores dispostos em mediana ± intervalo interquartil.**

	Tempo (minutos)									
	-30	0	30	60	90	120	180	240	300	360
<b>GT1</b>	14±2 <sup>a</sup>	14±3 <sup>a</sup>	13±2 <sup>a</sup>	12±2 <sup>a</sup>	12±1 <sup>a</sup>	11±0 <sup>a</sup>	9±4 <sup>*a</sup>	8±4 <sup>**a</sup>	9±4 <sup>*a</sup>	9±3 <sup>*a</sup>
<b>GT4</b>	14±1 <sup>a</sup>	13±2 <sup>a</sup>	14±1 <sup>a</sup>	13±1 <sup>a</sup>	13±1 <sup>a</sup>	12±1 <sup>a</sup>	11±1 <sup>a</sup>	12±1 <sup>b</sup>	11±3 <sup>a</sup>	12±1 <sup>b</sup>
<b>GT1+Ive</b>	13±2 <sup>a</sup>	13±2 <sup>a</sup>	13±1 <sup>a</sup>	13±1 <sup>a</sup>	13±2 <sup>a</sup>	12±1 <sup>a</sup>	12±1 <sup>a</sup>	11±1 <sup>**ab</sup>	11±1 <sup>*a</sup>	11±1 <sup>**ab</sup>

Médias significantes: \* P<0,05; \*\*P<0,01 para comparações intra-grupo, segundo teste de Dunnett.

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si, para comparações inter-grupos, segundo teste de Tukey.

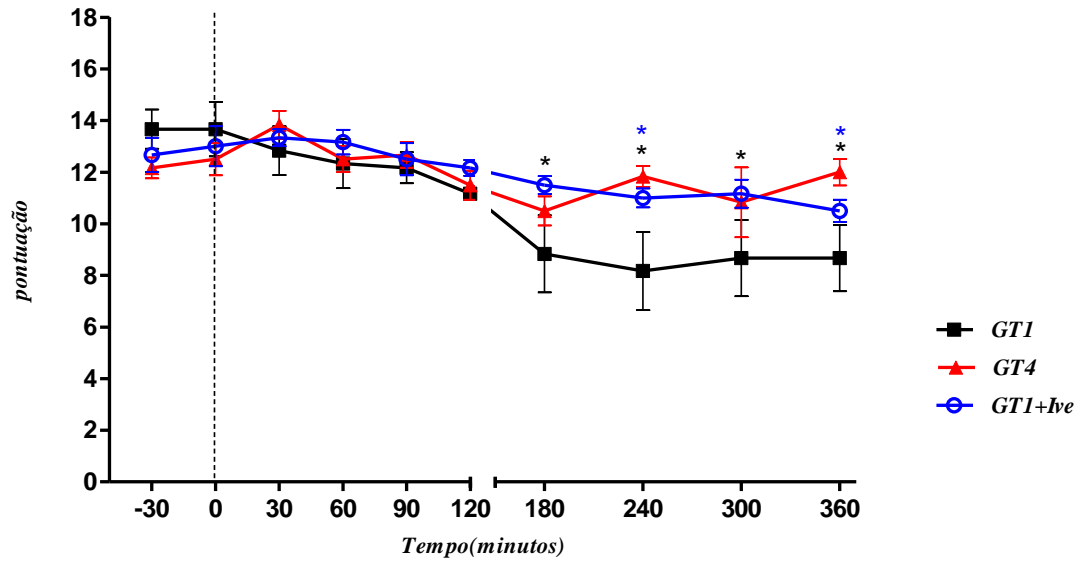


Figura 5- Avaliação da motilidade intestinal de equinos submetidos a administração de cloridrato de tramadol por sonda nasogástrica nas doses de 1mg/kg (GT1), 4mg/kg (GT4) ou de 1mg/kg associado a 0,2 mg/kg de ivermectina (GT1+Ive). Valores dispostos em média e erro padrão. \* Diferença entre o momento e seu basal (tempo 0).



**Tabela 3- Avaliação dos parâmetros hemogasométricos de equinos submetidos a administração de cloridrato de tramadol por sonda nasogástrica nas doses de 1mg/kg (GT1), 4mg/kg (GT4) ou de 1mg/kg associado a 0,2 mg/kg de ivermectina (GT1+Ive). Valores dispostos em média (X) ± desvio padrão (DP).**

	Tempos (minutos)		
	0	60	120
<b>pH</b>			
GT1	7,47±0,03 <sup>a</sup>	7,46±0,03 <sup>a</sup>	7,48±0,05 <sup>a</sup>
GT4	7,45±0,02 <sup>a</sup>	7,47±0,03 <sup>a</sup>	7,47±0,05 <sup>a</sup>
GT1+Ive	7,45±0,03 <sup>a</sup>	7,47±0,03 <sup>a</sup>	7,47±0,03 <sup>a</sup>
<b>HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>(mmol/l)</b>			
GT1	31,5±4,2 <sup>a</sup>	31,0±3,0 <sup>a</sup>	30,3±2,6 <sup>a</sup>
GT4	28,4±1,8 <sup>a</sup>	29,7±1,8 <sup>*a</sup>	29,5±2,4 <sup>a</sup>
GT1+Ive	29,3±2,6 <sup>a</sup>	30,4±2,7 <sup>a</sup>	31,5±2,8 <sup>*a</sup>
<b>PaCO<sub>2</sub>(mmHg)</b>			
GT1	43,0±4,5 <sup>a</sup>	43,4±3,9 <sup>a</sup>	41,2±5,5 <sup>a</sup>
GT4	40,7±2,8 <sup>a</sup>	41,7±3,6 <sup>a</sup>	40,4±4,4 <sup>a</sup>
GT1+Ive	42,4±5,2 <sup>a</sup>	41,6±3,9 <sup>a</sup>	43,3±4,6 <sup>a</sup>
<b>PaO<sub>2</sub>(mmHg)</b>			
GT1	97,3±5,9 <sup>a</sup>	90,0±7,9 <sup>a</sup>	90,8±6,7 <sup>a</sup>
GT4	93,8±5,9 <sup>a</sup>	93,8±5,0 <sup>a</sup>	93,2±4,4 <sup>a</sup>
GT1+Ive	92,8±7,2 <sup>a</sup>	93,2±6,9 <sup>a</sup>	93,8±9,6 <sup>a</sup>
<b>SpO<sub>2</sub> (%)</b>			
GT1	98,0±0,0 <sup>a</sup>	97,0±0,6 <sup>a</sup>	97,3±0,8 <sup>a</sup>
GT4	97,7±0,5 <sup>a</sup>	97,7±0,5 <sup>a</sup>	97,5±0,5 <sup>a</sup>
GT1+Ive	97,3±0,8 <sup>a</sup>	97,5±0,5 <sup>a</sup>	97,5±1,4 <sup>a</sup>
<b>K<sup>+</sup> (mmol/L)</b>			
GT1	3,8±0,4 <sup>a</sup>	3,9±0,5 <sup>a</sup>	3,6±0,3 <sup>a</sup>
GT4	4,1±0,2 <sup>a</sup>	3,8±0,3 <sup>**a</sup>	3,6±0,3 <sup>**a</sup>
GT1+Ive	4,1±0,4 <sup>a</sup>	3,9±0,5 <sup>a</sup>	3,7±0,2 <sup>*a</sup>
<b>Na<sup>+</sup> (mmol/L)</b>			
GT1	136±1 <sup>a</sup>	135±4 <sup>a</sup>	135±2 <sup>a</sup>
GT4	136±1 <sup>a</sup>	136±1 <sup>a</sup>	136±2 <sup>a</sup>
GT1+Ive	136±1 <sup>a</sup>	135±1 <sup>a</sup>	135±1 <sup>a</sup>
<b>Ca<sup>++</sup> (mmol/L)</b>			
GT1	1,52±0,15 <sup>a</sup>	1,45±0,30 <sup>a</sup>	1,37±0,25 <sup>a</sup>
GT4	1,72±0,15 <sup>a</sup>	1,63±0,15 <sup>a</sup>	1,44±0,15 <sup>*a</sup>
GT1+Ive	1,68±0,16 <sup>a</sup>	1,63±0,17 <sup>a</sup>	1,63±0,17 <sup>*a</sup>

Médias significantes: \* P<0,05; \*\*P<0,01 para comparações intra-grupo, segundo teste de Dunnett.

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si, para comparações inter-grupos, segundo teste de Tukey.

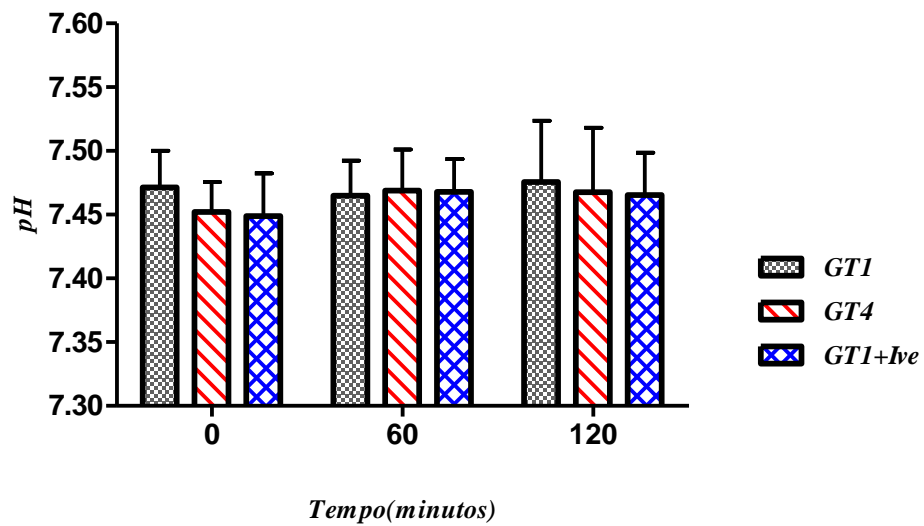


Figura 6- Avaliação do pH sanguíneo de equinos submetidos a administração de cloridrato de tramadol por sonda nasogástrica nas doses de 1mg/kg (GT1), 4mg/kg (GT4) ou de 1mg/kg associado a 0,2 mg/kg de ivermectina (GT1+Ive). Valores dispostos em média e erro padrão.

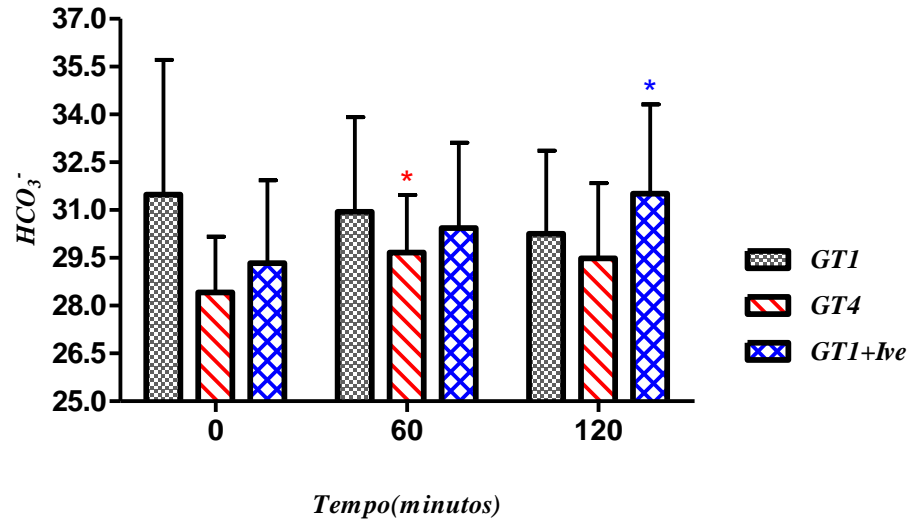


Figura 7- Avaliação do  $\text{HCO}_3^-$  (mmol/L) de equinos submetidos a administração de cloridrato de tramadol por sonda nasogástrica nas doses de 1mg/kg (GT1), 4mg/kg (GT4) ou de 1mg/kg associado a 0,2 mg/kg de ivermectina (GT1+Ive). Valores dispostos em média e erro padrão. \* Diferença entre o momento e seu basal (tempo 0).

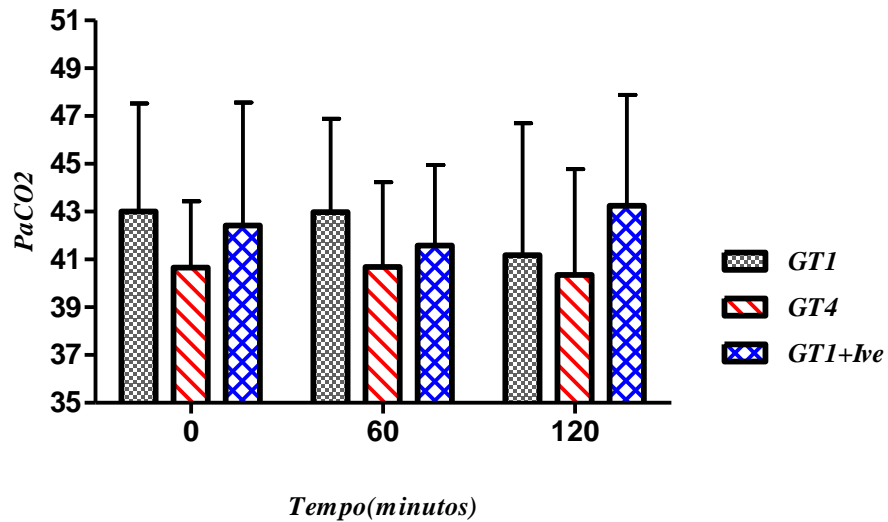


Figura 8- Avaliação da PaCO<sub>2</sub> (mmHg) de equinos submetidos a administração de cloridrato de tramadol por sonda nasogástrica nas doses de 1mg/kg (GT1), 4mg/kg (GT4) ou de 1mg/kg associado a 0,2 mg/kg de ivermectina (GT1+Ive). Valores dispostos em média e erro padrão.

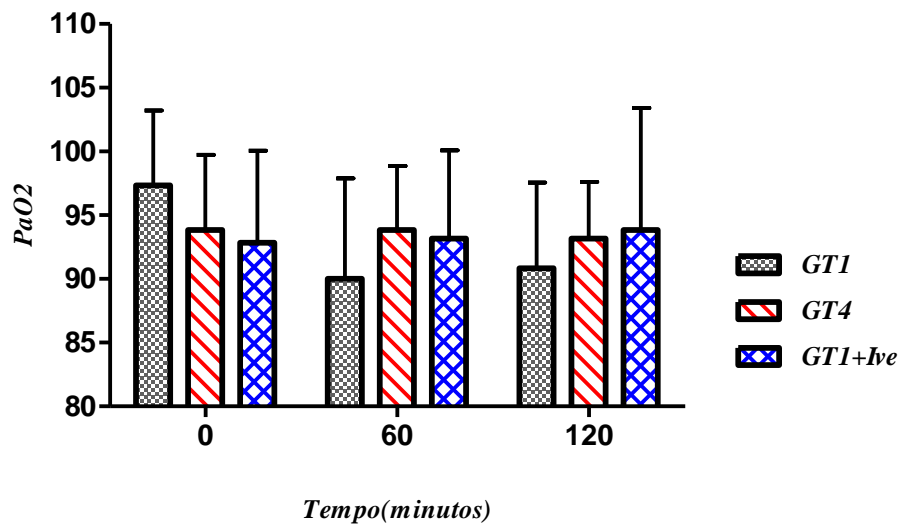


Figura 9- Avaliação da PaO<sub>2</sub> (mmHg) de equinos submetidos a administração de cloridrato de tramadol por sonda nasogástrica nas doses de 1mg/kg (GT1), 4mg/kg (GT4) ou de 1mg/kg associado a 0,2 mg/kg de ivermectina (GT1+Ive). Valores dispostos em média e erro padrão.

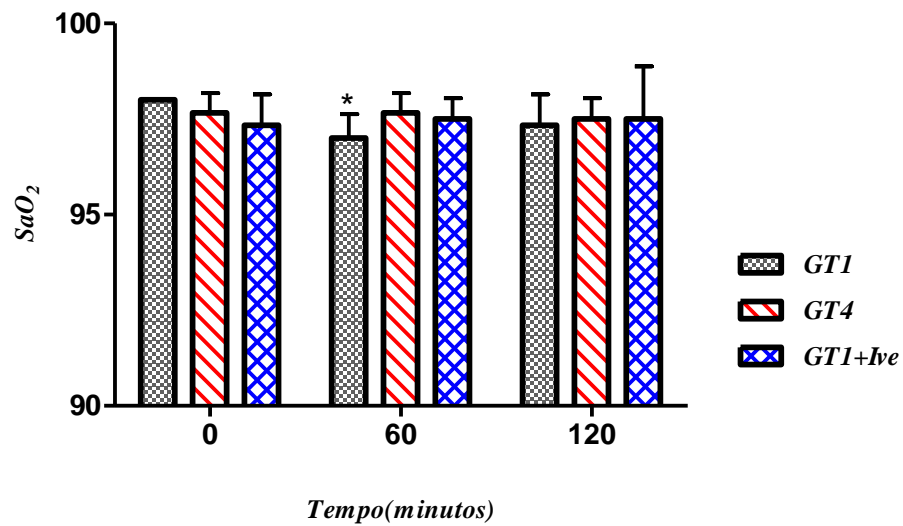


Figura 10- Avaliação da SaO<sub>2</sub> (%) de equinos submetidos a administração de cloridrato de tramadol por sonda nasogástrica nas doses de 1mg/kg (GT1), 4mg/kg (GT4) ou de 1mg/kg associado a 0,2 mg/kg de ivermectina (GT1+Ive). Valores dispostos em média e erro padrão. \* Diferença entre o momento e seu basal (tempo 0).

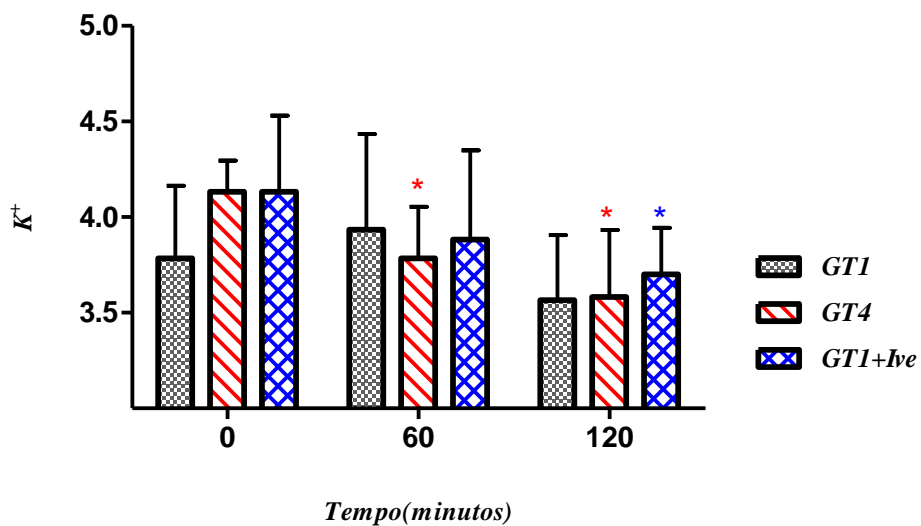


Figura 11- Avaliação do K<sup>+</sup> (mmol/L) de equinos submetidos a administração de cloridrato de tramadol por sonda nasogástrica nas doses de 1mg/kg (GT1), 4mg/kg (GT4) ou de 1mg/kg associado a 0,2 mg/kg de ivermectina (GT1+Ive). Valores dispostos em média e erro padrão. \* Diferença entre o momento e seu basal (tempo 0).

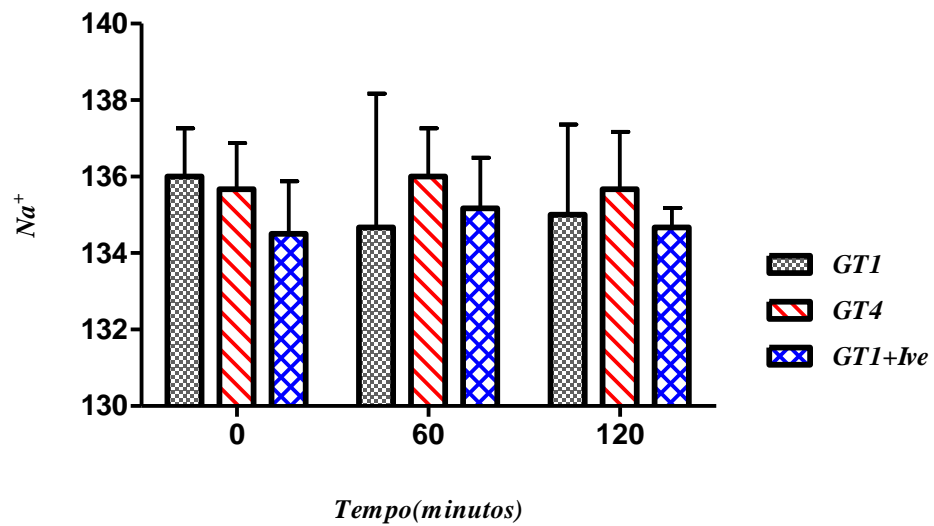


Figura 12- Avaliação do  $\text{Na}^+$  (mmol/L) de equinos submetidos a administração de cloridrato de tramadol por sonda nasogástrica nas doses de 1mg/kg (GT1), 4mg/kg (GT4) ou de 1mg/kg associado a 0,2 mg/kg de ivermectina (GT1+Ive). Valores dispostos em média e erro padrão.

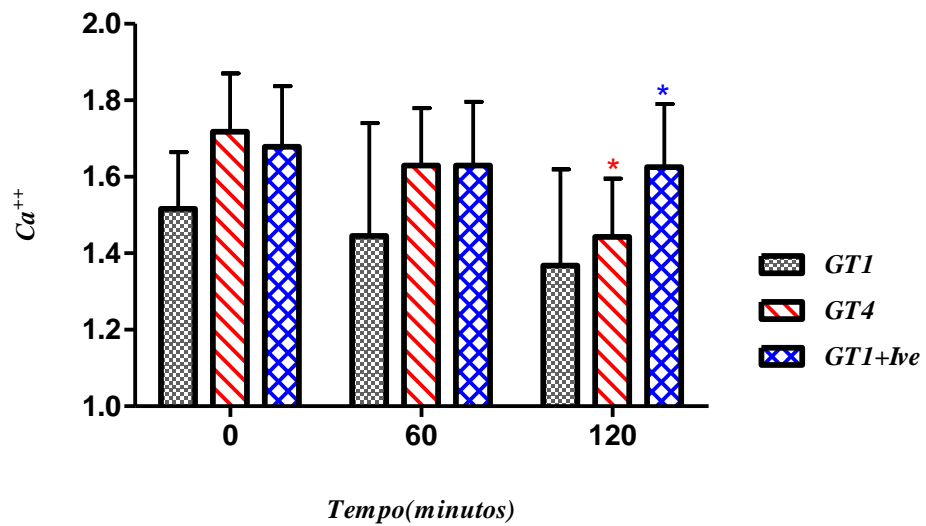


Figura 13- Avaliação do  $\text{Ca}^{++}$  (mmol/L) de equinos submetidos a administração de cloridrato de tramadol por sonda nasogástrica nas doses de 1mg/kg (GT1), 4mg/kg (GT4) ou de 1mg/kg associado a 0,2 mg/kg de ivermectina (GT1+Ive). Valores dispostos em média e erro padrão. \* Diferença entre o momento e seu basal (tempo 0).

**Tabela 4 – Avaliação da claudicação em equinos submetidos a administração de cloridrato de tramadol por sonda nasogástrica nas doses de 1mg/kg (GT1), 4mg/kg (GT4) ou de 1mg/kg associado a 0,2 mg/kg de ivermectina (GT1+Ive). Valores dispostos em mediana ± intervalo interquartil.**

	Tempo (minutos)							
	0	30	60	120	180	240	300	360
<b>GT1</b>	2.5 (1-4) <sup>a</sup>	1.75 (1-4) <sup>a</sup>	1.5 (1-3) <sup>a</sup>	1.75 (1-4) <sup>a</sup>	1.75 (1-4) <sup>a</sup>	2.5 (1.5-4) <sup>a</sup>	2.25 (1-3.5) <sup>a</sup>	3.25 (1.5-4) <sup>a</sup>
<b>GT4</b>	1.75 (1-3) <sup>a</sup>	2 (1-2) <sup>a</sup>	1.5 (1-2) <sup>a</sup>	1.5 (1-3) <sup>a</sup>	1.75 (1-4) <sup>a</sup>	1.5 (1-3) <sup>a</sup>	1.75 (1.5-4) <sup>a</sup>	1.75 (1.5-3.5) <sup>a</sup>
<b>GT1+Ive</b>	2.75 (1.5-4) <sup>a</sup>	2.5 (1.5-3.5) <sup>a</sup>	2 (1.5-3.5) <sup>a</sup>	2.5 (1-3.5) <sup>a</sup>	2.5 (1-3.5) <sup>a</sup>	2.25 (1.5-4) <sup>a</sup>	2.75 (1.5-4) <sup>a</sup>	3 (1.5-4) <sup>a</sup>

Médias significantes: \* P<0,05; \*\*P<0,01 para comparações intra-grupo, segundo teste de Dunnett.

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si, para comparações inter-grupos, segundo teste de Tukey.

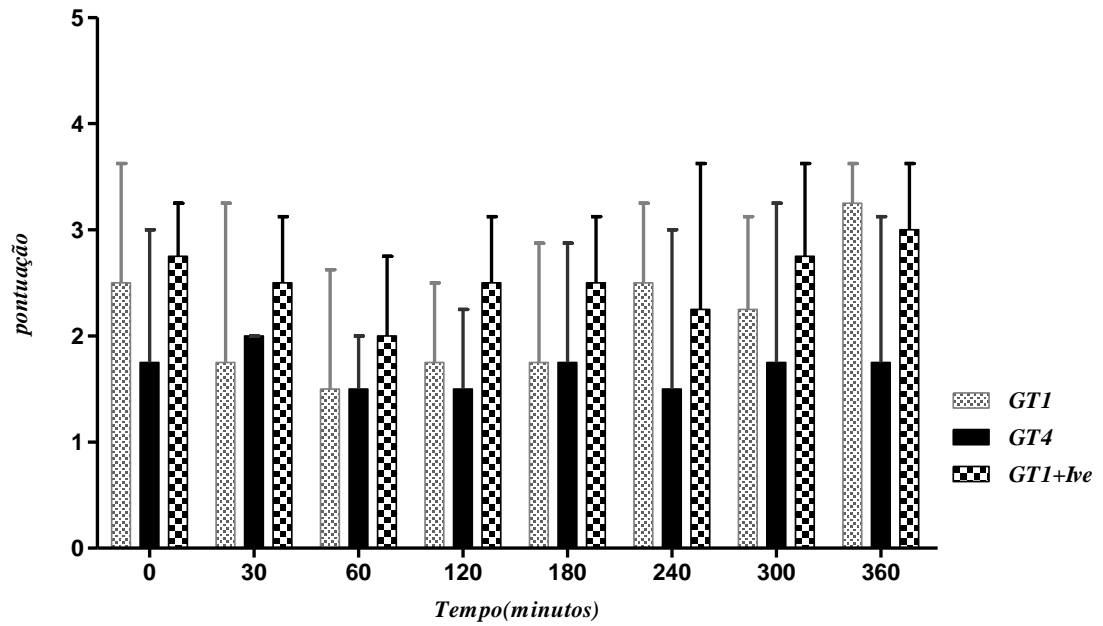


Figura 14- Avaliação do grau de claudicação de equinos submetidos a administração de cloridrato de tramadol por sonda nasogástrica nas doses de 1mg/kg (GT1), 4mg/kg (GT4) ou de 1mg/kg associado a 0,2 mg/kg de ivermectina (GT1+Ive). Valores dispostos em média e erro padrão. \* Diferença entre o momento e seu basal (tempo 0).

**Tabela 5. Avaliação da temperatura corpórea (°C) de equinos submetidos a administração de cloridrato de tramadol por sonda nasogástrica nas doses de 1mg/kg (GT1), 4mg/kg (GT4) ou de 1mg/kg associado a 0,2 mg/kg de ivermectina (GT1+Ive). Valores dispostos em média ± desvio padrão.**

	Tempo (minutos)								
	0	30	60	90	120	180	240	300	360
<b>GT1</b>	36,7±0,3 <sup>a</sup>	36,9±0,5 <sup>a</sup>	36,8±0,5 <sup>a</sup>	36,9±0,5 <sup>a</sup>	36,9±0,4 <sup>a</sup>	37,0±0,5 <sup>a</sup>	36,9±0,4 <sup>a</sup>	36,9±0,3 <sup>a</sup>	36,9±0,3 <sup>a</sup>
<b>GT4</b>	36,7±0,4 <sup>a</sup>	37,0±0,4 <sup>a</sup>	37,0±0,3 <sup>a</sup>	36,9±0,4 <sup>a</sup>	36,8±0,5 <sup>a</sup>	36,7±0,4 <sup>a</sup>	36,7±0,4 <sup>a</sup>	36,9±0,5 <sup>a</sup>	36,8±0,4 <sup>a</sup>
<b>GT1+Ive</b>	36,8±0,3 <sup>a</sup>	36,9±0,6 <sup>a</sup>	36,9±0,5 <sup>a</sup>	36,8±0,6 <sup>a</sup>	37,1±0,5 <sup>a</sup>	37,2±0,3 <sup>a</sup>	37,0±0,3 <sup>a</sup>	37,0±0,3 <sup>a</sup>	37,1±0,3 <sup>a</sup>

Médias significantes: \* P<0,05; \*\*P<0,01 para comparações intra-grupo, segundo teste de Dunnett.

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si, para comparações inter-grupos, segundo teste de Tukey.



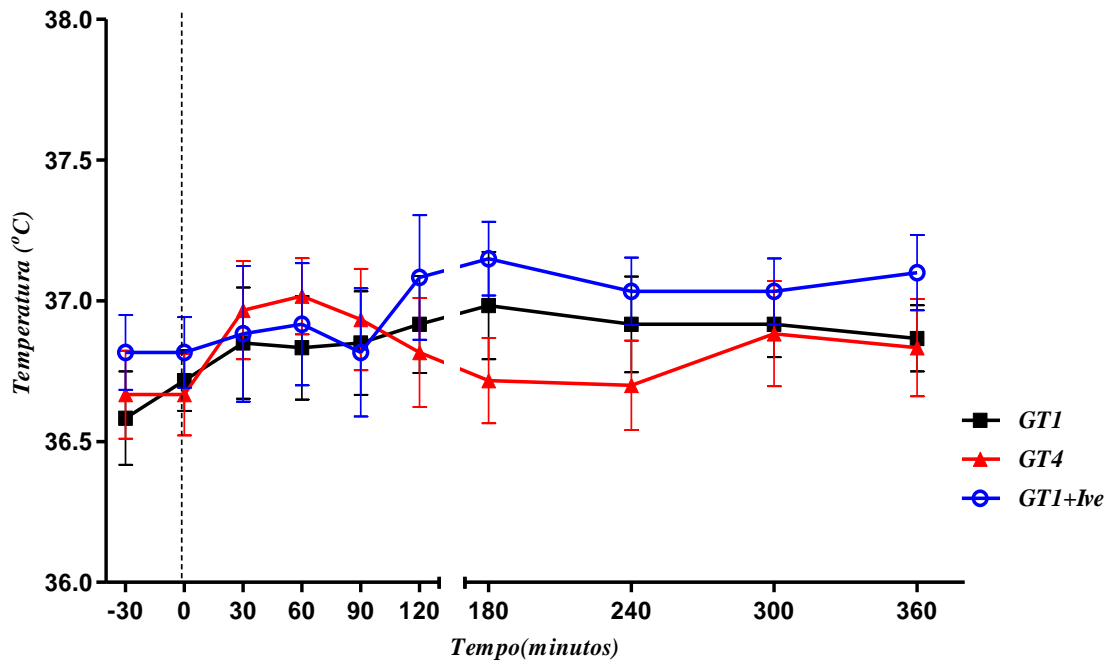


Figura 15- Avaliação da temperatura corpórea de equinos submetidos a administração de cloridrato de tramadol por sonda nasogástrica nas doses de 1mg/kg (GT1), 4mg/kg (GT4) ou de 1mg/kg associado a 0,2 mg/kg de ivermectina (GT1+Ive). Valores dispostos em média e erro padrão.

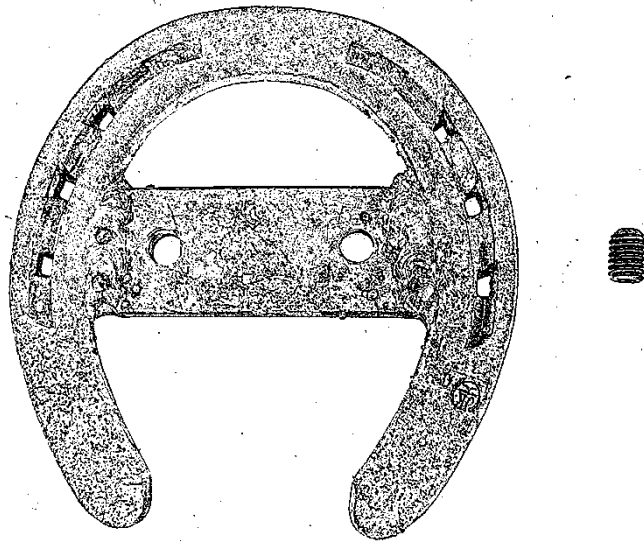


Figura 16. Ferradura modificada com barra fixa no bordo interior, possuindo dois orifícios com rosca para parafusos de 10 mm para compressão solar de equinos.