UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC

CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV

Mestrado em Ciências Veterinárias

COMPARAÇÃO DOS EFEITOS DO CLORIDRATO DE ROPIVACAÍNA E DO SULFATO DE MORFINA PELA VIA INTRA-ARTICULAR EM EQÜINOS SUBMETIDOS À SINOVITE EXPERIMENTALMENTE INDUZIDA

LUIZ CÉSAR PEREIRA SANTOS

LAGES, SC, BRASIL

2007

LUIZ CÉSAR PEREIRA SANTOS

COMPARAÇÃO DOS EFEITOS DO CLORIDRATO DE ROPIVACAÍNA E DO SULFATO DE MORFINA PELA VIA INTRA-ARTICULAR EM EQÜINOS SUBMETIDOS À SINOVITE EXPERIMENTALMENTE INDUZIDA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias.

Orientador: Dr. Aury Nunes de Moraes

LAGES, SC, BRASIL

2007

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC

CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV

Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias

A comissão examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado

COMPARAÇÃO DOS EFEITOS DO CLORIDRATO DE ROPIVACAÍNA E DO SULFATO DE MORFINA PELA VIA INTRA-ARTICULAR EM EQÜINOS SUBMETIDOS À SINOVITE EXPERIMENTALMENTE INDUZIDA

Elaborada por

Luiz César Pereira Santos

Como requisito para obtenção do grau de
Mestre em Ciências Veterinárias

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Aury Nunes de Moraes
(Presidente/Orientador CAV- UDESC)

Prof. Dr. Peterson Triches Dornbusch
PUC-PR

Prof. Dra. Suzane Lílian Beier
CAV-UDESC

Prof. Dr. Joandes Henrique Fonteque
CAV-UDESC

Lages, 05 de Setembro de 2007.

Não tive outra escolha senão dedicar este trabalho a espécie eqüina. Em minha opinião devemos desculpas a essa espécie por fazê-las suportar nossa falta de compreensão por milhares de anos. Os cavalos têm sido meus professores, meus amigos e meu sustento.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho só foi possível graças à força de vontade de alguns colegas e da superação dos obstáculos existentes.

Ao Prof. Dr. Aury Nunes de Moraes pela confiança depositada em mim, e pelo apoio e dedicação com que me orientou nesta dissertação.

À coordenação, professores e funcionários do programa de mestrado, bem como do Hospital de Clínicas Veterinárias da Universidade Estadual de Santa Catarina.

Aos Professores Sérgio Dalagnol, responsável pelo laboratório de Patologia Aviária do CAV-UDESC, Mere Erika Saito responsável pelo laboratório de Patologia Clinica do HCV e Davi Michelutti, professor titular da disciplina de estatística do CAV-UDESC, pela amizade, apoio, incentivo e trabalhos prestados.

Ao comandante do destacamento de Polícia Montada de Santa Catarina (PMSC - Lages), Ten. Balduíno, pela cessão de três eqüinos para o desenvolvimento deste experimento.

À minha mãe, Dona Maria Luiza, que contribuiu muito com seu apoio e amor para realização deste trabalho.

Aos estagiários e amigos, Luiz Fernando Schuch, Misael Leopoldo Espíndola e Antonio Rocha Pinto que foram fundamentais na execução da parte experimental deste trabalho.

À Juliana K. F. de Lima, meu muito obrigado pelo incentivo, amor e compreensão em todos os momentos, sempre estando ao meu lado principalmente nos momentos de dificuldades.

Aos colegas de mestrado, principalmente a Fabiano Buss Cruz, Fabíola N. Flores e André Soares pela convivência e pela amizade.

"O ser humano vivência a si mesmo, seus pensamentos como algo separado do resto do universo - numa espécie de ilusão de ótica de sua consciência. E essa ilusão é uma espécie de prisão que nos restringe aos nossos desejos pessoais, conceitos e ao afeto por pessoas mais próximas. Nossa principal tarefa é a de nos livrarmos dessa prisão, ampliando o nosso círculo de compaixão, para que ele abranja todos os seres vivos e toda a natureza em sua beleza. Ninguém conseguirá alcançar completamente esse objetivo, mas lutar pela sua realização já é por si só parte de nossa liberação e o alicerce de nossa segurança interior".

Albert Einstein

RESUMO

As lesões músculo esqueléticas que envolvem as articulações podais dos cavalos permanecem sendo a maior causa da queda na performance atlética de cavalos de corrida. Desta forma, o uso intra-articular de analgésicos é um meio útil e efetivo de aliviar os estímulos nociceptivos causados pelas patologias articulares ou ainda causadas no pós-cirúrgico. **Objetivos:** Comparar os efeitos analgésicos e reações sistêmicas do cloridrato de ropivacaína e do sulfato de morfina pela via intra-articular em eqüinos submetidos à sinovite experimentalmente induzida. **Métodos:** Foram utilizados doze (12) eqüinos hígidos, sem padrão racial, machos ou fêmeas, com idade entre 8 a 15 anos; cada animal foi utilizado 2 vezes com intervalos de 30 dias, totalizando 24 animais. A sinovite foi induzida através da administração intra-articular (articulação rádio-cárpica) de 0,5 ng de lipopolissacarídeo (LPS) de Escherichia coli 055:B5. Decorridos 360 minutos da administração de LPS foram administrados 0,01 mL/kg de solução salina 0,9% (grupo controle) constituindo o grupo SAL (n=06); 0,1 mg/kg de cloridrato de ropivacaína (1%) no grupo ROPI (n=06); 0,1 mg/kg de sulfato de morfina (1%) no grupo MORF (n=06) e 0,05 mg/kg de ropivacaína (0,2%) associado à 0,05 mg/kg de morfina (1%) no grupo RM (n=06). A avaliação da analgesia intra-articular foi descrita através da visualização do grau de claudicação (1-5), utilizando-se a escala visual numérica (EVN), bem como a escala descritiva de dor (ED). Os parâmetros hematológicos e sinoviais foram analisados imediatamente antes da administração do LPS (M0), 6h após a injeção do LPS (M6) e ao final das avaliações (M1440). Os parâmetros clínicos foram avaliados nos seguintes intervalos de tempo: imediatamente antes da administração de LPS (T-360); 6h após a administração de LPS (M0), 30 minutos após a administração da solução salina ou ropivacaína e/ou morfina (M30), 90 minutos (M90), 150 minutos (M150), 210 minutos (M210), 360 minutos (M360), 720 minutos (M720), 1440 minutos (M1440) após a administração da solução salina ou ropivacaína e/ou morfina. **Resultados:** A aplicação da ropivacaína promoveu analgesia com rápido inicio de ação, cujos efeitos perduram em média por 150 minutos em tecidos inflamados. A morfina apesar de um início de ação mais lento mostrou um prolongamento dos efeitos analgésicos quando comparado a ropivacaína. Quando em combinação com a ropivacaína promoveu uma analgesia intra-articular aditiva, com rápido inicio de ação e analgesia de até 24h em cavalos submetidos à sinovite experimental. Houve uma diminuição significativa dos valores de células nucleadas totais (CNT) dos grupos em estudo quando comparados ao G-SAL ao final das avaliações (M1440). **Conclusões:** A administração concomitante da ropivacaína e da morfina pela via intra-articular é uma opção complementar de tratamento analgésico, e representam uma opção viável no alívio da dor proveniente das sinovites agudas. A ausência de efeitos colaterais por esta via sugere que os opióides, como a morfina, podem ser uma nova e promissora classe de agentes aplicados pela via intra-articular em doenças articulares e que podem nos levar ao desenvolvimento de uma nova geração de drogas analgésicas com possíveis potenciais antiinflamatórios.

Palavras-chave: eqüino; intra-articular; ropivacaína; morfina.

ABSTRACT

The musculoskeletal lesions that involve the joints of horses are still the major cause of fall in performance of athletic horses. Thus, the use of intraarticular anesthesia is an easy method of relieving articular pain. The promotion of an intra-synovial analgesia to the patient accelerates its recovery period at the hospital, promoting a comfort period mainly after arthroscopic surgeries, as well as controls pain coming from joint diseases. **Purpose:** The purpose of this study was to compare the intraarticular analgesic effects and systemic effects of ropivacaine and morphine in horses submitted to experimentally induced synovitis. **Methods:** Twelve healthy horses, without specific breed, males and females, between 8 and 15 years were used in this study; each animal was used twice with an interval period of 30 days, totalizing 24 treatments. The synovitis was induced using 0.5ng/joint of LPS from E. coli 055:B5 on the left radio-carpal joint. Six hours after LPS injection it was given 0.01 ml/kg of saline (control group/n=6); 0.1mg/kg of ropivacaine 1% (ROP group/n=6); 0.1 mg/kg of morphine 1% group (MORF group/n=6) and 0.05 of ropivacaine 1% added to 0.05 mg/kg of morphine (ROP+MORF/n=6). The intraarticular anesthesia was subjectively measured using a lameness score evaluation, numerical rating scale (NRS) and a single descriptive scale (SDS), and by the range of motion of the affected joint. The hematological and sinovial variables were analyzed right before LPS injection (M0), 6h after LPS injection (M6) and at the end of the evaluation period (M1440). Clinical variables were analyzed on the following intervals: just before LPS injection; 360 minutes after LPS injection or at the moment where treatments were injected (M0); 30 minutes after treatment (M30); 90 minutes (M90); 150 minutes (M150); 210 minutes (M210); 360 minutes (M360); 720 minutes (M720) and 1440 minutes (M1440). **Results:** Ropivacaine injection promoted an analgesic effect with fast onset of action. Its effects lasted for approximately 150 minutes in inflamed tissue. Morphine, despite of a slower onset of action showed a longer analgesic effect than ropivacaine. When used together promoted an additive analgesia, with fast onset of action and analgesia covering the whole post-injection period (24hours). There was a significant decrease on TNC in all groups when comparing to placebo (G-SAL) at M1440. **Conclusions:** Intraarticular morphine and ropivacaine is an analgesic complementary treatment option and represent a good pain relief on primary synovitis. The absence of side effects by this rout of administration suggests that opioids, like morphine can be a new and promise class of agents administered intraarticularly in joint diseases and that can take us to the development of a new generation of analgesic drugs with possible anti-inflammatory effects.

Keywords: equine; intraarticular; ropivacaine; morphine

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados demográficos dos eqüinos utilizados no experimento..... **24**

Tabela 2- Média ± erro padrão da média do exame de sangue: eritrócitos ($x10^6$ céls/µl), leucócitos ($x10^3$ céls/µl), neutrófilos segmentados ($x10^3$ céls/µl), linfócitos ($x10^3$ céls/µl) de eqüinos submetidos à sinovite experimental induzida através da aplicação intra-carpal esquerda de LPS E. coli (0,5 ng/articulação) + solução salina constituindo o grupo (SAL); LPS+ropivacaína (grupo ROPI); LPS + morfina (grupo MORF) e LPS + ropivacaina associado à morfina (grupo ROPI+MORF)..... **37**

Tabela 3 - Média ± erro padrão da média do grau de efusão de eqüinos submetidos à sinovite experimental induzida através da aplicação intra-carpal esquerda de LPS E. coli (0,5 ng/articulação) + solução salina constituindo o grupo (SAL); LPS+ ropivacaína (grupo ROPI); LPS + morfina (grupo MORF) e LPS + ropivacaina associado à morfina (grupo ROPI+MORF)..... **39**

Tabela 4 – Média ± erro padrão da média da escala descritiva de dor (ED) de eqüinos submetidos à sinovite experimental induzida através da aplicação intra-carpal esquerda de LPS E. coli (0,5 ng/articulação) + solução salina constituindo o grupo (SAL); LPS+ropivacaína (grupo ROPI); LPS + morfina (grupo MORF) e LPS + ropivacaina associado à morfina (grupo ROPI+MORF)..... **40**

Tabela 5 - Média ± erro padrão da média da temperatura local (°C) de eqüinos submetidos à sinovite experimental induzida através da aplicação intra-carpal esquerda de LPS E. coli (0,5 ng/articulação) + solução salina (grupo SAL); LPS+ropivacaína (grupo ROPI); LPS + morfina (grupo MORF) e LPS + ropivacaina associado à morfina (grupo ROPI+MORF)..... **41**

Tabela 6 - Média ± erro padrão do teste de qualidade de precipitação da mucina (TQPM) de eqüinos submetidos à sinovite experimental induzida através da aplicação intra-carpal esquerda de LPS E. coli (0,5 ng/articulação) + solução salina (grupo SAL); LPS+ ropivacaína (grupo ROPI); LPS + morfina (grupo MORF) e LPS + ropivacaina associado à morfina (grupo ROPI+MORF)..... **44**

Tabela 7 – Dados de avaliação da densidade e pH do líquido sinovial seguidas da administração do LPS nos diferentes grupos..... **44**

Tabela 8 - Média ± erro padrão da média de eritórcitos ($x10^6$ céls/µl) células nucleadas totais ($x10^3$ céls/µl) (CNT), neutrófilos ($x10^3$ céls/µl) e monócitos (céls/µl) existentes no líquido sinovial de eqüinos submetidos à sinovite experimental induzida através da aplicação intra-carpal esquerda de LPS E. coli (0,5 ng/articulação) + solução salina (grupo SAL); LPS+ ropivacaína (grupo ROPI); LPS + morfina (grupo MORF) e LPS + ropivacaína + morfina (GRM)..... **45**

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fluxograma dos momentos (minutos) de avaliação clínica e laboratorial..... **26**

Figura 2 – Variação média da temperatura corpórea (°C) em eqüinos submetidos à sinovite experimentalmente induzida por LPS e tratados com Sol. Salina (G-SAL), ropivacaína (G-ROPI), ou morfina (G-MORF), ou a combinação de ambas as drogas (G-RM). * Significativamente diferente dos demais grupos (Tukey's test [p≤0,05])..... **36**

Figura 3 – Variação média da freqüência cardíaca (bpm) em eqüinos submetidos à sinovite experimentalmente induzida por LPS e tratados com Sol. Salina (G-SAL), ropivacaína (G-ROPI), ou morfina (G-MORF), ou a combinação de ambas as drogas (G-RM). * Significativamente diferente dos demais grupos, # Significativamente de M0 (Tukey's test [p≤0,05])..... **36**

Figura 4 – Variação média da freqüência respiratória (mrm) em eqüinos submetidos à sinovite experimentalmente induzida por LPS e tratados com Sol. Salina (G-SAL), ropivacaína (G-ROPI), ou morfina (G-MORF), ou a combinação de ambas as drogas (G-RM). # Significativamente de M0 (Tukey's test [p≤0,05])..... **38**

Figura 5 - Variação média da circunferência articular (cm) em eqüinos submetidos à sinovite experimentalmente induzida por LPS e tratados com Sol. Salina (G-SAL), ropivacaína (G-ROPI), ou morfina (G-MORF), ou a combinação de ambas as drogas (G-RM). # Significativamente diferente dos de M0 (Tukey's test [p≤0,05])..... **38**

Figura 6 - Variação média da escala visual numérica (EVN) de eqüinos submetidos à sinovite experimental induzida através da aplicação intra-carpal esquerda de LPS E. coli (0,5 ng/articulação) + solução salina constituindo o grupo (SAL); LPS+ ropivacaína (grupo ROPI); LPS + morfina (grupo MORF) e LPS + ropivacaina associado à morfina (grupo ROPI+MORF)..... **39**

Figura 7 - Variação média da proteína total (g/dl) em eqüinos submetidos à sinovite experimentalmente induzida por LPS e tratados com Sol. Salina (G-SAL), ropivacaína (G-ROPI), ou morfina (G-MORF), ou a combinação de ambas as drogas (G-RM). # Significativamente diferente dos de M0 (Tukey's test [p≤0,05])..... **43**

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

IL-1	= Interleucina -1
TNF	= Tumor Necrosis Factor (Fator de Necrose Tumoral)
LPS	= Lipopolissacarídeo
LS	= Líquido Sinovial
CETEA	= Comissão de Ética em Experimentação Animal
SAL	= Salina
ROPI	= Ropivacaína
MORF	= Morfina
RM	= Ropivacaína + Morfina
PBS	= Phosphate Buffered Saline (Salina Tamponada com Fosfato)
pH	= Potencial de Hidrogênio
EDTA	= Ácido Etilenodiamino tetra-acético
TQPM	= Teste de Qualidade de Precipitação de Mucina
CNT	= Células Nucleadas Totais
T	= Temperatura Corpórea
t	= Temperatura local
FC	= Freqüência Cardíaca
FR	= Freqüência Respiratória
TPC	= Tempo de Preenchimento Capilar
CA	= Circunferência Articular
EVN (NRS)	= Escala Visual Numérica (Numerical Rating Scale)
ED (SDS)	= Escala Descritiva (Single Descriptive Scale)
EA	= Efusão Articular
AAEP	= American Association of Equine Practioners
ANOVA	= Análise de Variância
EPM	= Erro Padrão da Média
DFM	=Dor à flexão Máxima
IA	= Intra-articular

Kg	= Kilograma
ng	= Nanograma
mg	= Miligrama
ml	= Mililitro
µl	= Microlitro
α	= Alfa
±	= Mais ou menos
P	= Nível de Significância
°C	= Graus célsius

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO **15**
2. REVISÃO DE LITERATURA **18**
2.1 Sinovite **18**
2.2 Lipopolissacarídeo(LPS) **20**
2.3 Líquido sinovial **21**
2.4 Sulfato de morfina **22**
2.5 Cloridrato de ropivacaína **23**
3. MATERIAL E MÉTODOS **24**
3.1 Seleção dos animais **24**
3.2 Protocolo experimental **25**
3.3 Diluição do LPS **27**
3.4 Coleta das Amostras **27**
3.5 Avaliação laboratorial **28**
3.6 Avaliação clínica **31**
3.7 Análise Estatística **33**
4. RESULTADOS **35**
4.1 Sinais Clínicos e hematológicos **35**
4.2 Líquido sinovial **42**
5. DISCUSSÃO E CONCLUSÃO **46**
6. REFERÊNCIAS **53**

1 - INTRODUÇÃO

As lesões que envolvem a articulações podais dos cavalos permanecem sendo a maior causa da queda na performance atlética na indústria de cavalos (TODHUNTER & LUST, 1990). Dentro destes distúrbios encontram-se as sinovites primárias, normalmente localizadas na articulação cárpica e metacarpo/metatarsofalangeana de cavalos jovens em início de treinamento (McILWRAITH, 1987).

O processo doloroso que acompanha algumas patologias articulares em eqüinos deve ser abolido através da administração de fármacos analgésicos capazes de diminuir os estímulos nociceptivos produzidos por estas patologias. O princípio da anestesia intra-articular é simples: localizar a origem da claudicação e abolir ou modular o processo doloroso circunscrito a uma determinada estrutura articular (AGUIAR, 2005). O uso da anestesia intra-articular é indicada quando estruturas sinoviais e articulares específicas, como: cápsulas articulares, bainhas tendíneas, bolsas sinoviais e o osso subcondral são suspeitos de estarem envolvidas no quadro da claudicação (STASHAK, 1994).

A anestesia intra-articular é útil ainda na diminuição da dor pós-operatória (BENNET & STEFFEY, 2002), bem como no tratamento complementar de doenças articulares inflamatórias crônicas (KEATES et al, 1999), evitando-se o uso excessivo de drogas antiinflamatórias pela via parenteral, diminuindo desta forma os efeitos colaterais produzidos

por esta classe de droga (STEIN et al, 1999). Este tipo de anestesia consiste na supressão momentânea da dor que provém de processos patológicos e/ou cirúrgicos que envolvam estruturas articulares moles como: bainhas tentídeas, cápsulas articulares, ligamentos e membrana sinovial (HALL et al 2001; STASHAK, 1994).

A analgesia pré-emptiva, peri-operatória e pós-operatória/traumática pode ser realizada de muitas formas. Porém a combinação de diferentes métodos analgésicos, ou anestesia multimodal, tem provado ser muito efetiva em muitas espécies. Estas combinações têm a vantagem de melhorar o grau de analgesia do paciente sem causar efeitos colaterais ao organismo (TAYLOR, 2005; AGUIAR, 2005). O grande objetivo da administração de substâncias analgésicas pela via intra-articular em pacientes encaminhados a cirurgias ortopédicas, por exemplo, não deveria ser a redução da dor pós-operatória, mas sim a sua prevenção (FRANCESCHI et al, 2001).

As doenças articulares em cavalos e no Homem possuem um significado social e econômico muito relevante; desta forma pesquisas na área e no melhoramento das técnicas terapêuticas se fazem necessárias. Pelo fato dos cavalos possuírem doenças articulares (sinovites) similares àquelas encontrados no Homem, o cavalo foi escolhido como espécie para comparação dos efeitos terapêuticos e analgésicos do cloridrato de ropivacaína e do sulfato de morfina administrados pela via intra-articular como uma ferramenta terapêutica no controle da dor. Há a necessidade em se descobrir novas drogas que amenizem a dor articular em eqüinos, principalmente àqueles acometidos por uma patologia articular, ou mesmo àqueles submetidos a cirurgias ortopédicas como artroscopias, já muito comuns nos hospitais e clínicas no Brasil. A promoção de uma ótima analgesia ao paciente pode diminuir muito seu tempo de recuperação, diminuindo seu stress e promovendo um máximo conforto durante o período pós-operatório. A grande vantagem deste tipo de anestesia é a completa analgesia sem a perda da propriocepção, ou seja não há bloqueio motor do membro. Sabe-se que

estudos realizados em humanos e cães mostram a eficácia da morfina como agente analgésico pela via intra-articular; e o uso da ropivacaína em articulações de cavalos ainda não está bem elucidado por ser uma droga recentemente descoberta.

Considerando-se que as afecções que determinam claudicação são comuns e representam um importante aspecto na Medicina Veterinária Eqüina, com cerca de 33 % das claudicações devendo-se a enfermidades articulares (LEME et al, 1999), o presente trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos do cloridrato de ropivacaína e do sulfato de morfina pela via intra-articular em eqüinos submetidos à sinovite experimentalmente induzida, determinando assim uma opção de tratamento analgésico local para eqüinos acometidos por uma patologia articular, ou mesmo determinando um protocolo analgésico na prevenção da dor advinda do pós-operatório de cirurgias articulares.

2 - REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Sinovite

2.1.1 Definição

A sinovite é a inflamação dos tecidos moles que compõem o espaço articular na ausência de lesões ósseas, confirmadas através da radiografia (RUMBAUGH et al, 2004). A este tipo de enfermidade denominamos sinovite primária. Esta enfermidade produz alterações funcionais e estruturais à membrana sinovial; estas alterações afetam a qualidade e a quantidade de liquido sinovial. A sinovite primária é caracterizada pela infiltração de células inflamatórias para dentro da cavidade articular, ocorrendo neovascularização, hiperplasia e hipertrofia das células que compõem a membrana sinovial (TODHUNTER & LUST, 1990).

2.1.2 Sinais Clínicos

A sinovite é clinicamente evidenciada por efusão articular, dor e diminuição da flexão articular. A dor, que clinicamente é evidenciada pela claudicação e flexão da articulação, é iniciada quando estímulos térmicos, químicos e mecânicos ativam fibras aferentes periféricas (HALL et al, 2001). Adicionalmente a isso, a liberação de mediadores inflamatórios (bradicininas, prostaglandinas e leucotrienos) diminui o potencial para a ativação de receptores aferentes (TODHUNTER & LUST, 1990).

2.1.3 Alterações patofisiológicas

A interação entre o líquido sinovial e a cartilagem articular é complexa. Estudos ‘’in vivo’’ e ‘’in vitro’’ sugerem que alterações em um destes tecidos articulares afetam intimamente outros tecidos articulares adjacentes (SNYDERMAN, 1986). Estes estudos indicam uma liberação de proteases que degradam os tecidos articulares (SAKLATVALA, 1986). A secreção destas proteases é induzida por uma série de citoquinas produzidas localmente por neutrófilos, macrófagos e por células sinoviais (DAYER et al, 1985). A interleucina -1 (IL-1) e o fator de necrose tumoral (TNF) têm contribuído para a inflamação e degradação articular através da indução da liberação de proteases e por induzir os sinoviócitos, fibroblastos e condrócitos a secretarem prostaglandina E2 (DAYER et al, 1985).

2.1.4 Sinovite experimental

Muitos são os modelos para se produzir a inflamação articular. Foi usado extrato alcoólico da amêndoa na articulação radiocarpal de cães (KEATES et al, 1999), adjuvante completo de Freund (POZZOBON et al, 2005), partículas álcool polivinílico (CORNELISSEN et al, 1998), polímeros de silicone líquido (RUMBAUGH et al, 2004) e o lipopolissacarídeo de *E. coli* (PALMER & BERTONE, 1994ab; FIRTH et al, 1987; EASTER et al, 2000; TODHUNTER et al, 1998; CAMPEBELL et al, 2004) em eqüinos.

O modelo experimental utilizado neste estudo envolveu a administração de 0,5ng/articulação de lipopolissacarídeo (LPS) de *E.coli*, administrada assepticamente dentro da articulação, a qual induz uma sinovite com sinais clínicos representativos de casos clínicos

rotineiramente acompanhados (PALMER & BERTONE, 1994a). Doses acima de 0,5 ng/articulação promoveram efeitos clínicos adversos desde leve hipertermia (CAMPEBELL et al, 2004) a endotoxemia (FIRTH et al, 1987).

2.2 Lipopolissacarídeo (LPS)

O lipopolissacarídeo é uma estrutura lipídica complexa que contém em sua fórmula molecular polissacarídeos e ácidos graxos. O LPS é constituinte da parede celular de muitas bactérias gram negativas, como *E. coli* e *Salmonela sp* (BROCK et al, 1994). É considerado um antígeno altamente imunogênico com habilidade de aumentar a resposta imune a antígenos solúveis (LANDY & BAKER, 1966; ABBAS et al, 2003). As proteases liberadas através da administração da endotoxina são responsáveis pelo dano provocado à cartilagem articular (SAKLATVALA, 1986). A secreção destas proteases é induzida por várias citocinas produzidas localmente pelos macrófagos e sinoviócitos (DAYER et al., 1985). Ainda, estas citocinas são especialmente importantes como mediadores da resposta inflamatória. A Interleucina-1 (IL-1) e o fator de necrose tumoral contribuem na degradação articular através da indução de proteases e pela produção de prostaglandina E_2 pelas células sinoviais e condrócitos (DAYER et al., 1985); estas citocinas também estão associadas com a sinovite induzida por esta endotoxina em eqüinos (HAWKINS et al., 1993). Durante a fase incial da sinovite induzida pela administração desta endotoxina, o TNF foi uma das primeiras citocinas secretadas para o fluido articular (HAWKINS et al., 1993).

2.3 Líquido sinovial

O líquido sinovial de uma articulação normal é um dialisado do plasma modificado pela produção de ácido hialurônico, glicoproteínas e outras macromoléculas (COLES, 1984). Entretanto, a glicose e alguns eletrólitos também podem estar presentes no líquido sinovial, em concentrações similares as do plasma. As proteínas do plasma atravessam a barreira hemato-sinovial em quantidades inversamente proporcionais ao seu peso molecular (LEME et al, 1999).

As principais funções do liquido sinovial são auxiliar na lubrificação das articulações e promover a nutrição de aproximadamente dois terços da cartilagem articular, uma vez que esta é avascular. O líquido sinovial normal é claro, viscoso, de cor amarelo-palha (FERNANDEZ et al., 1983; HOULTON, 1994), com pH variando de 7 e 7,8 (SAWYER, 1963) de acordo com a espécie, não contém fibrinogênio (VAN PELT, 1974), ou seja, não coagula (CURTISS, 1964). Em condições normais o líquido sinovial possui bom coágulo de mucina e teste de fibrina negativo (FERNANDEZ et al., 1983; HOULTON, 1994). A quantidade de células nucleadas varia entre 250 e 3000, com 94 a 100% de mononucleares e 0 a 6% de neutrófilos (BRINKER et al., 1986), e a concentração de proteínas é de 2 a 2,5g/dl (PERMAN, 1980; LIPOWITZ, 1985, BARNABÉ et al, 2005). O líquido sinovial (LS) existente nas cavidades articulares pode ser considerado um fluido especializado, que reflete alterações no tecido sinovial (VAN PELT, 1962) e no metabolismo intra-articular ocasionadas por doenças (VAN PELT, 1962; 1974). Informações obtidas pela análise do fluido podem indicar a natureza e a extensão das lesões intra-articulares e contribuir com outras técnicas auxiliares na determinação do diagnóstico de sinovites sépticas, na definição do tratamento (TEW & HOTCHKISS, 1981) e no seu acompanhamento (MOYER 1983), possibilitando estabelecer um prognóstico (TEW & HOTCHKISS, 1981).

2.4 Sulfato de Morfina

Atualmente na medicina humana é uma das drogas mais utilizadas para analgesia intra-articular no alivio da dor pós-operatória. (STEIN et al, 1999; FRANCESCHI et al, 2001; GOODWIN et al, 2005; DROSOS et al, 2002).

Evidências mostram que os opióides, como a morfina, podem produzir efeitos analgésicos muito potentes através da interação com receptores próprios nos diferentes tecidos periféricos (SHEEHY et al, 2001; GREENE, 2002; STEIN et al, 1996). Estudos em humanos (STEIN et al, 1991) e em cães (SAMMARCO et al, 1996; KEATES et al, 1999) indicam que a morfina injetada pela via intra-articular em pequenas doses promovem analgesia muito efetiva após cirurgias artroscópicas (BENNET & STEFFEY, 2002). Keates et al (1999) descrevem evidências da existência de receptores opióides em tecidos inflamados, permitindo, desta forma, que estas substâncias tenham um efeito periférico adequado, ou seja, o aumento de sítios de ligação, achados em tecidos articulares inflamados de cães, suporta a idéia do uso clínico da morfina pela via intra-articular no tratamento da dor causada pelas doenças inflamatórias crônicas, bem como nas dores causadas por cirurgias ortopédicas. Likar et al (2004) reforçam a idéia e citam que em tecidos periféricos inflamados os efeitos analgésicos dos opióides são indiscutíveis. A dose de morfina intra-articular recomendada por Valverde & Gunkel (2005) na espécie eqüina é de 0,1mg/kg. Os efeitos analgésicos desta droga são mais pronunciados pela via intra-articular quando comparados à administração endovenosa (JAUREGUITO et al, 2002; STEIN et al, 1999; CEPEDA et al, 1997). Contudo para Drosos et al (2002) e Badner et al (1997) as informações acerca da administração da morfina pela via intra-articular em pequenas doses ainda são inconclusivas em seres humanos submetidos a cirurgias artroscópicas.

2.5 Cloridrato de Ropivacaína

Os anestésicos locais são drogas muito utilizadas na clínica médica de eqüinos, principalmente no diagnóstico de patologias que acometem os membros dos eqüinos; são substâncias que, reversivelmente impedem a propagação de potenciais de ação, através dos bloqueios dos canais de sódio do axônio (MONTEIRO, 2005). Os anestésicos locais variam muito quanto à potência, duração de ação, estabilidade, toxicidade e capacidade de penetrar nos tecidos. Dentro deste grupo de drogas pode-se citar: a lidocaína, a bupivacaina, a mepivacaína e a ropivacaína.

A ropivacaína, um anestésico local aminoamídico é um fármaco de longa duração (McCLURE, 1996). Esta substância mostra propriedades físicas semelhantes à bupivacaína. Entretanto, ao contrário da bupivacaína, que é uma mistura racêmica, a ropivacaína é um S-(-) enantiômero puro. A ropivacaína ainda promove vasoconstricção nos tecidos onde é administrada, enquanto que os demais anestésicos locais promovem vasodilatação (HALL et al, 2001).

Rautoma et al (2000) citam que a ropivacaína tem propriedades farmacodinâmicas e farmacocinéticas similares a bupivacaina, porém produz menores efeitos colaterais no sistema cardiocirculatório e nervoso quando comparado a esta última. Devido a sua baixa lipossolubilidade nos diferentes tecidos, principalmente nas fibras mielinizadas motoras tipo alfa, a ropivacaina contribui para um retorno mais rápido da deambulação (menor bloqueio motor) quando comparado aos demais anestésicos locais (WILLIAMS, 1996).

Para Harkins et al (2001) há pouca informação disponível a respeito da disposição, da farmacocinética e dosagem em animais da ropivacaína usada pela via intra-articular. Doss et al (2001) recomendam doses de 0,3 mg/kg de ropivacaina 0,2% pela via intra-articular em estudos realizados em humanos.

3 - MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi previamente aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal (CETEA), da Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC, em 11 de Novembro de 2005, conforme protocolo nº 1.28/05.

3.1 Seleção dos animais

Doze eqüinos sem raça definida, com idades variando entre 8 a 15 anos (Tabela 1) foram divididos aleatoriamente em quatro grupos, de forma que estes animais fossem repetidos com um intervalo de trinta dias, tomando-se o cuidado para que estes mesmos animais não passassem pelo mesmo grupo novamente, totalizando assim 24 tratamentos.

Tabela 1 - Dados demográficos dos eqüinos utilizados no experimento

	Grupo I Salina (n=6)	Grupo II Ropivacaína (n=6)	Grupo III Morfina (n=6)	Grupo IV Ropivacaína/Morfina (n=6)
Idade (anos)	13±2,68	12,66±2,65	10,16±3,37	12±3,28
Sexo (M:F)	0:6	1:5	2:4	3:3
Peso (Kg)	326,3±3,4	348±4,6	292,16±4,9	298,83±2,02
Altura (cm)	139,83±5,07	141,33±5,31	140±5,02	140,16±3,25

Dados descritos como média ± desvio padrão

Desta forma, os grupos foram divididos da seguinte maneira: G salina (n=6), G ropivacaína (n=6), G morfina (n=6), G ropivacaína + morfina (n=6). Todos os animais foram mantidos em piquetes contendo aveia, azevém e água. Apenas no momento em que estes fossem usados na pesquisa eram acomodados dois dias antes, em baias individuais, onde eram alimentados com feno de alfafa e água *ad libitum.*

A seleção dos animais baseou-se na inexistência de doença sistêmica (exame clínico completo e hemograma), ausência de claudicação e quaisquer alterações ou dor evidenciadas ao exame clínico.

3.2 Protocolo experimental

A mensuração das variáveis clínicas e laboratoriais iniciou-se após um período de estabilização nos primeiros horários da manhã. Para criar um modelo experimental de dor, no qual se pudessem testar as drogas anestésicas cloridrato de ropivacaína e sulfato de morfina, administrou-se 0,5ng/articulação de lipopolissacarídeo[1], cepa 055:B5 de *Escherichia coli* dentro da articulação antebráquio-cárpica esquerda dos eqüinos, causando sinovite primária leve à moderada (PALMER & BERTONE, 1994a). O estudo foi realizado de forma cega pelo avaliador clínico e laboratorial, ou seja, nenhum dos dois sabia quais fármacos estavam sendo administrados.

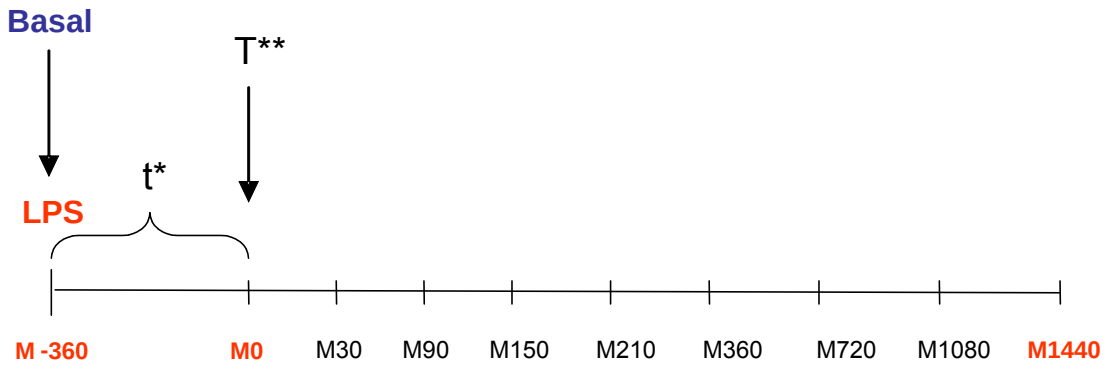
Seis horas após a aplicação de 0,5 ng/LPS/articulação (M0) instituíram-se os tratamentos que se seguem: 0,01 ml/kg de solução salina 0,9% (grupo controle) constituindo o grupo SAL (n=06); 0,1 mg/kg de cloridrato de ropivacaína[2] (1%) no grupo ROP (n=06); 0,1 mg/kg de sulfato de morfina[3] (1%) no grupo MORF (n=06) e 0,05 mg/kg de ropivacaína (1%) associado à 0,05 mg/kg de morfina (1%) no grupo RM (n=06). As variáveis de dor (Escala

[1] *E. coli* 055:B5 – Sigma Chemical CO., St Louis, USA.
[2] Cloridrato de Ropivacaína 1% - Naropin – Astra Zeneca, Massachusetts, USA.
[3] Sulafo de Morfina 1% - Dimorf – Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda, Itapira, SP, Brasil.

Visual Numérica e Escala descritiva) foram analisadas e comparadas ao M0, que corresponde a seis horas da indução da sinovite.

Após tricotomia e anti-sepsia da articulação em estudo, a artrocentese foi realizada com os animais em estação, utilizando-se agulha hipodérmica 40x12, seringas de 5 ml e luvas estéreis. Para antissepsia foram utilizados iodo povidine e álcool 70%. Com o membro anterior esquerdo flexionado, realizou-se a punção e coleta das amostras. O M0 foi o momento no qual a droga teste foi injetada na articulação cárpica esquerda de cada animal no intuito de avaliar-se os efeitos das drogas nos diferentes momentos. O volume administrado correpondeu proporcionalmente ao volume retirado de líquido sinovial de 4 ml/articulação (TODHUNTER & LUST, 1990). Para tanto, as doses foram ajustadas de acordo com o peso de cada animal e acrescidas de solução salina para atingir o volume padrão de 4 ml a ser injetado na articulação.

Figura 1 - Fluxograma dos momentos (minutos) de avaliação clinica e laboratorial.



LEGENDA

(t*) periodo decorrido para indução da sinovite

(T**) momento da administração dos tratamentos

Momentos em vermelho demonstram os tempos de coleta (sangue e líquido sinovial).

3.3 Diluição do LPS

O processo de manipulação e diluição do LPS foi realizado em capela de fluxo laminar vertical sob luz ultravioleta. Utilizou-se solução salina tamponada com fosfato (PBS[4] – pH 7,4) como diluente do lipopolissacarídeo. O LPS é comercializado na forma de pó liofilizado (1mg), esterilizado com raios gama. Para realizar sua reconstituição, adicionou-se 1 ml de PBS à amostra, e gentilmente agitou-se para uma melhor homogeneização.

Essa solução (1000µg/ml) foi colocada em 499ml de PBS, obtendo-se uma concentração de 2 µg/ml ou 2000ng/ml. Dessa solução mãe retirou-se 20µl de LPS, que foram colocados em 9980µl de PBS totalizando-se 10ml de solução filha na concentração de 4 ng/ml, em criotubos de 10 ml. Destes criotubos foram retirados 125µl de LPS adicionados em 875µl de PBS, chegando a uma concentração final desejada de 0,5ng/ml. Essas alíquotas hiperdiluídas foram armazenadas em criotubos[5] de 2 ml e congeladas a uma temperatura de -20°C, para posterior utilização.

3.4 Coleta das Amostras

Amostras de sangue venoso e de líquido sinovial foram colhidas da veia jugular externa esquerda de cada animal e da articulação antebraquio-cárpica esquerda respectivamente e armazenadas em tubos de vacutainer[6] contendo EDTA.

As punções venosa e articular foram feitas imediatamente antes da aplicação do LPS (M-360), e subsequentemente 6 horas após a administração do LPS (M0), ou seja, no

---

[4] Sigla em inglês para Phosphate Buffered Saline (PBS – 7,4) - One Lambda, Canoga Park, CA, USA.
[5] Tubos Criogênicos – 2 ml - SPLABOR - Comércio de Produtos para Laboratório LTDA, Presidente Prudente, SP, Brasil
[6] Tubos para coleta de amostras - vacutainer com EDTA – BD Brasil, São Paulo, SP, Brasil

momento da administração da droga teste, e 30h (M1440) após a administração do LPS, sendo imediatamente enviadas para análise hematológica completa, proteínas totais e fibrinogênio; e o líquido sinovial para análise de sua celularidade, aspectos físicos, bioquímicos e qualidade da precipitação da mucina.

3.5 Avaliação Laboratorial

3.5.1 Líquido sinovial

O exame laboratorial para líquido sinovial considerou a(o):

a) Determinação dos aspectos físicos (volume, coloração, turbidez, viscosidade e densidade).

b) Contagem global de células (células nucleadas totais e eritócitos)

c) Determinação dos aspectos bioquímicos (proteínas e pH)

d) Teste de qualidade de precipitação da mucina (TQPM)

3.5.1.1 Aspectos físicos

O líquido sinovial (LS) foi avaliado em termos físicos através da classificação do seu volume aspirado, de sua coloração, turbidez e densidade .

O volume foi avaliado subjetivamente no momento da coleta, e comparado com o volume esperado para a articulação em estudo.

As amostras foram classificadas de acordo com sua coloração em: amarelo claro, amarelo escuro, castanho e vermelho. A turbidez foi classificada em: límpido, turvo, moderadamente turvo e intensamente turvo.

A determinação da viscosidade foi realizada no momento da transferência do LS da seringa de colheita para os tubos de vacutainer, estimando-se o comprimento do filamento formado pela gota antes de se desprender de seu bico.

3.5.1.2 Celularidade

Foram analisadas a presença de células nucleadas (neutrófilos, linfócitos, monócitos, macrófagos e sinoviócitos).

A contagem das células nucleadas totais foi realizada usando-se câmara hematocitométrica de Neubauer[7], utilizando solução salina 0,9% como diluente. A análise citológica do líquido sinovial passou por um processo de centrifugação (1500 rpm por cinco minutos), e o sedimento utilizado para confecção da lâmina, que foi posteriormente corado pelo método panótico rápido[8], para contagem diferencial de células e morfologia (MAHAFFEY, 1992; TROTTER & McILWRAITH, 1996).

Foram contadas 300 a 500 células nucleadas de cada lâmina, sendo classificadas no que se refere a sua morfologia e diferenciação.

---

[7] Câmara Neubauer espelhada – LF equpipamentos, São Paulo, SP, Brasil.
[8] Corante panótico rápido para citologia - LB – Laborclin Ltda, São Paulo, SP,Brasil.

3.5.1.3 Aspectos bioquímicos

As amostras foram processadas e analisadas segundo técnicas descritas por (MAHAFFEY, 1992), nas quais as proteínas (g/dl) e a densidade foram determinadas por refratometria[9]. O pH e a glicose foram determinados por tiras reagentes[10].

3.5.1.4 Teste de qualidade de precipitação da mucina (TQPM)

O teste da formação do coágulo de mucina procedeu-se pela da adição de 1ml do líquido sinovial, tomando-se o cuidado de não encostar a amostra na parede do tubo de ensaio, em solução contendo 0,1ml de ácido acético 2,5%. Deixou-se repousar, à temperatura ambiente por uma hora. A qualidade de precipitação da mucina (QPM) foi classificada, de acordo com a formação do coágulo, em mucina de qualidade Boa (4), Regular (3), Ruim (2) e Péssima (1), (VAN PELT, 1974).

3.5.2 Hemograma

As amostras de sangue foram acondicionadas em tubos de vacutainer contendo EDTA, homogeneizadas e enviadas imediatamente para o laboratório para exame hematológico. As amostras foram colocadas em contador eletrônico de células[11] para análise do eritrograma e

---

[9] Refratômetro de mão BRIX – LF Equipamentos, São Paulo, SP, Brasil.
[10] Urofita® 10 DL – Biobrás Diagnóstico, Belo Horizonte,MG, Brasil.
[11] Contador de células eletrônico – abcVET – abx Diagnostics, Montpellier, France.

leucograma. O sangue foi posteriormente acondicionado em microtubos (75mm) de vidro e centrifugado a 1500 rpm por cinco minutos para determinação do hematócrito (Ht).

3.6 Avaliação clínica

Os parâmetros clínicos: temperatura corpórea (T) e local (t), freqüência cardíaca (FC) e respiratória (FR), tempo de preenchimento capilar (TPC), circunferência articular (CA) foram realizados objetivamente, de modo que o grau de claudicação (Escala Visual Numérica - EVN), a efusão articular (EA), bem como o grau de movimentação da articulação (normal ou reduzida), motilidade intestinal (normal ou reduzida), coloração das mucosas, dor à flexão máxima e dor à palpação (Escala Descritiva - ED), foram subjetivamente.avaliados em todos os momentos (M-360), (M0), (M30), (M90), (M150), (M210), (M360), (M720), (M1080) e (M1440).

3.6.1 Circunferência articular (CA)

A circunferência articular foi mensurada com fita métrica milimetrada[12], baseando-se como ponto de referência anatômico o carpo acessório, 3,5 cm abaixo deste (RUMBAUGH et al, 2004).

[12] Scrotal Tape - Lane Mfg Inc, Denver, Colorado, USA.

3.6.2 Temperatura local (t)

A temperatura local foi avaliada nos dois membros anteriores através da utilização de termômetro infravermelho a laser sob uma distancia padrão de 10 cm (STASHAK, 1994)[13]. O membro anterior direito, serviu como controle nos momentos de avaliação da temperatura local para comparação com o membro contralateral em estudo.

3.6.3 Efusão articular (EA)

A efusão articular (0- normal; 1-leve; 2-moderado; 3-severo) foi subjetivamente avaliada e correlacionada positivamente com a circunferência articular sempre por um único avaliador (RUMBAUGH et al, 2004).

.

3.6.4 Escala Descritiva (ED) / Dor à flexão máxima / Movimentação da articulação

A escala descritiva de dor (ED)[14] foi avaliada através da palpação e elevação da articulação rádio-cárpica. À medida que o animal reagisse ao estímulo realizado eram anotados os escores, para tanto a ED foi classificada em: 0-sem dor; 1-leve; 2-moderada; 3-severa, segundo Rumbaugh et al,2004.

---

[13] Termômetro Infravermelho TI-870 (-50ºC a 1000ºC) – LF Equipamentos, São Paulo, SP, Brasil.
[14] ED - Representa a sigla em inglês SDS (Single Descriptive Scale).

A dor à flexão máxima e a movimentação da articulação foram subjetivamente avaliadas à medida que se flexionava a ariculação rádio-cárpica ao máximo até a reação de dor por parte do animal, esta confirmada quando o animal colocava seu peso sobre os membros posteriores. A dor à flexão máxima e a movimentação da articulação radio-cárpica foram determinadas de acordo com a reação do animal e foram classificadas, respectivamente em: presente/ausente e normal/reduzida.

3.6.7 Escala Visual Numérica (EVN)

O grau de claudicação aqui denominado como Escala Visual Numérica (EVN)[15] foi realizado em superfície plana e dura variando de 0 (claudicação inexistente) à 5 (claudicação óbvia e sem o apoio do membro), seguindo uma escala já existente (AAEP, 1991). Os animais foram filmados ao trote, avaliando-se o grau de claudicação durante os momentos em estudo. As imagens foram arquivadas para posterior avaliação e confirmação dos escores determinados previamente no momento do exame.

3.7 Análise Estatística

A análise do líquido sinovial, bem como, do exame clínico foram realizados sem conhecimento a que grupo de tratamento os animais pertenciam, ou seja, o estudo foi considerado simples cego.

---

[15] EVA - Representa a sigla em inglês NRS (Numerical Rating Scale).

Os dados são dispostos como média ± erro padrão da média (EPM) e foram analisados utilizando-se análise de variância (ANOVA) com medidas repetidas no tempo, em um delineamento completamente casualizado, com seis repetições. As comparações de médias foram efetuadas com teste de Tukey adotando-se um nível de significância de 5%.

4 – RESULTADOS

O apetite e o consumo de água não foram afetados pela sinovite induzida através da administração intra-articular de LPS na dosagem utilizada.

4.1. Sinais Clínicos e hematológicos

A coloração das membranas mucosas, tempo de preenchimento capilar, motilidade intestinal mantiveram-se clinicamente dentro da normalidade durante o período de avaliação, porém a temperatura geral diferiu estatística, porém não clinicamente em todos os momentos em relação ao basal (-360) e no M210 no G-ROPI (38,2°C) quando comparado aos demais grupos (Fig.2).

Os valores de eritrócitos e leucócitos sangüíneos, hematócrito, hemoglobina, fibrinogênio e proteínas plasmáticas totais não diferenciaram estatisticamente entre os tempos e nem entre os grupos em nenhum dos tempos (Tab. 2).

A freqüência cardíaca (FC) (Fig. 3) e respiratória (FR) diferiram estatística (exceto no M1080 para FC e no M720 e M1080 para FR), porém não clinicamente (valores dentro da normalidade para a espécie eqüina) em todos os momentos em relação ao basal. Houve uma diferença estatística, porém não clínica na FC entre o grupo G-ROPI quando comparados à G-SAL e à G-RM em M0. Não houve diferença estatística nos valores da FR entre os grupos em nenhum dos momentos (Fig. 4).

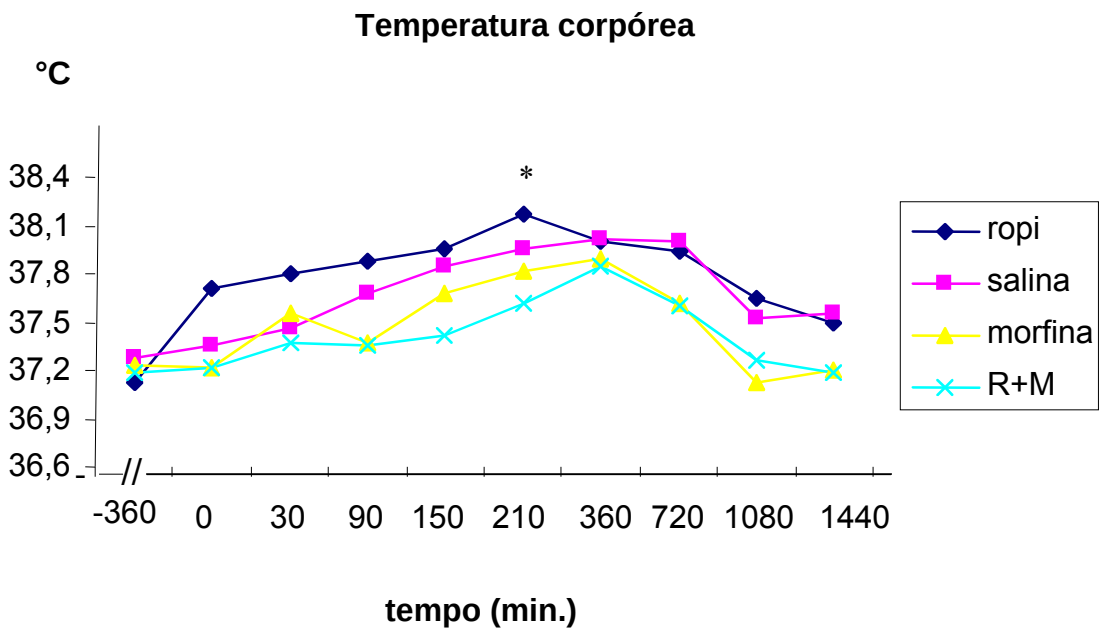


Figura 2 - Variação média da temperatura corpórea (°C) em eqüinos submetidos à sinovite experimentalmente induzida por LPS e tratados com solução salina (G-SAL), ropivacaína (G-ROPI), ou morfina (G-MORF), ou a combinação de ambas as drogas (G-RM). * Significativamente diferente dos demais grupos (Tukey's test [p≤0,05]).

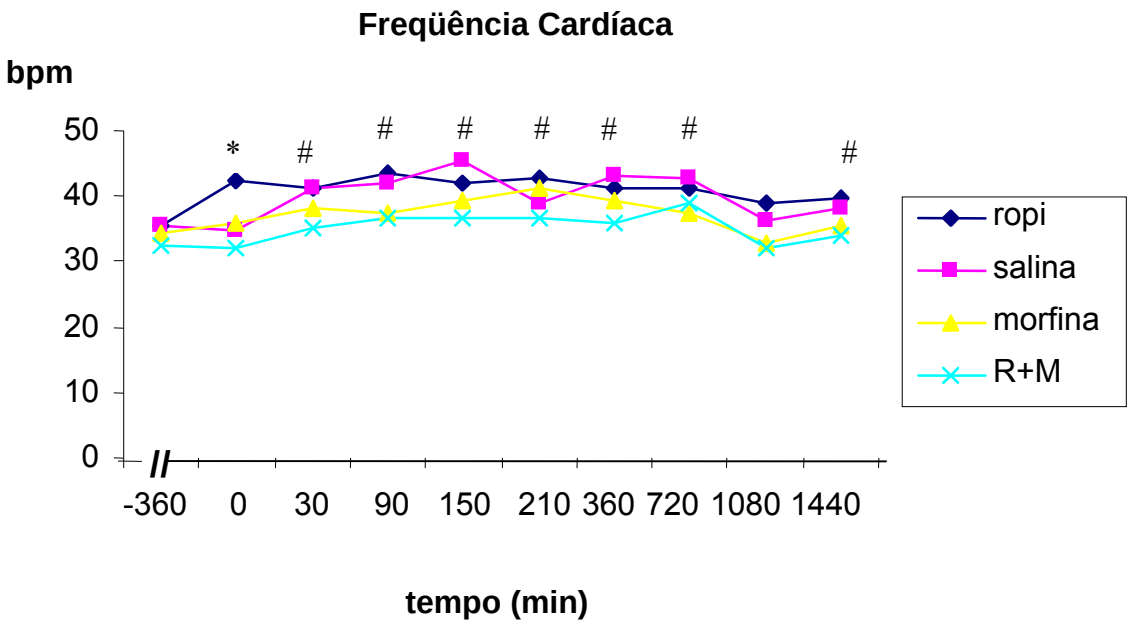


Figura 3 – Variação média da freqüência cardíaca (bpm) em eqüinos submetidos à sinovite experimentalmente induzida por LPS e tratados com solução salina (G-SAL), ropivacaína (G-ROPI), ou morfina (G-MORF), ou a combinação de ambas as drogas (G-RM). *Significativamente diferente dos demais grupos; # Todos os grupos são significativamente de M0 (Tukey's test [p≤0,05]).

Tabela 2 - Média ± erro padrão da média das células sangüíneas: eritrócitos ($x10^6$ céls/µl), leucócitos ($x10^3$ céls/µl), neutrófilos segmentados ($x10^3$ céls/µl), linfócitos ($x10^3$ céls/µl) de cavalos submetidos à sinovite experimental induzida através da aplicação intra-carpal esquerda de LPS E. coli (0,5 ng/articulação) + solução salina constituindo o grupo (SAL); LPS+ropivacaína (grupo ROPI); LPS + morfina (grupo MORF) e LPS + ropivacaina associado à morfina (grupo ROPI+MORF).

Células sanguíneas	Grupo	Tempo (minutos)		
		-360†	0**	1440
Eritrócitos	SAL	7,35±0,32	7,72±0,4	7,74±0,57
($x10^6$ céls/µl)	ROPI	7,30±0,61	7,47±0,51	7,17±0,38
	MORF	7,66±0,43	7,8±0,38	7,39±0,25
	ROPI+MORF	7,20±0,47	7,16±0,32	6,90±0,36
Leucócitos				
($x10^3$ céls/µl)	SAL	12,00±1,58	13,83±1,05	13,93±1,47
	ROPI	10,73±0,92	13,23±1,00	12,1±0,65
	MORF	11,53±1,14	12,76±1,11	11,68±1,06
	ROPI+MORF	9,65±0,53	9,65±0,7	9,98±0,38
Neutrófilos	SAL	6,82±1,06	7,61±0,77	7,74±0,84
($x10^3$ céls/µl)	ROPI	5,98±0,59	6,05±1,06	6,80±0,68
	MORF	6,26±0,84	7,78±0,91	7,25±0,81
	ROPI+MORF	5,88±0,72	6,03±0,81	6,22±0,5
Linfócitos	SAL	3,94±0,68	3,305±0,69	3,67±0,93
($x10^3$ céls/µl)	ROPI	3,67±0,55	3,31±0,66	3,91±0,76
	MORF	4,49±0,62	3,92±0,27	3,81±0,38
	ROPI+MORF	2,93±0,47	2,81±0,65	3,15±0,63

† Momento da indução da sinovite; **Momento no qual instituiu-se os tratamentos descritos.

A circunferência articular (CA) (Fig.5) e a efusão articular (EA) (Tab.3) alteraram significativamente em relação ao basal em todos os momentos, porém não houve diferença estatística entre os grupos. Os sinais de efusão começaram a desaparecer e foram completamente resolvidos após 48h da indução da sinovite.

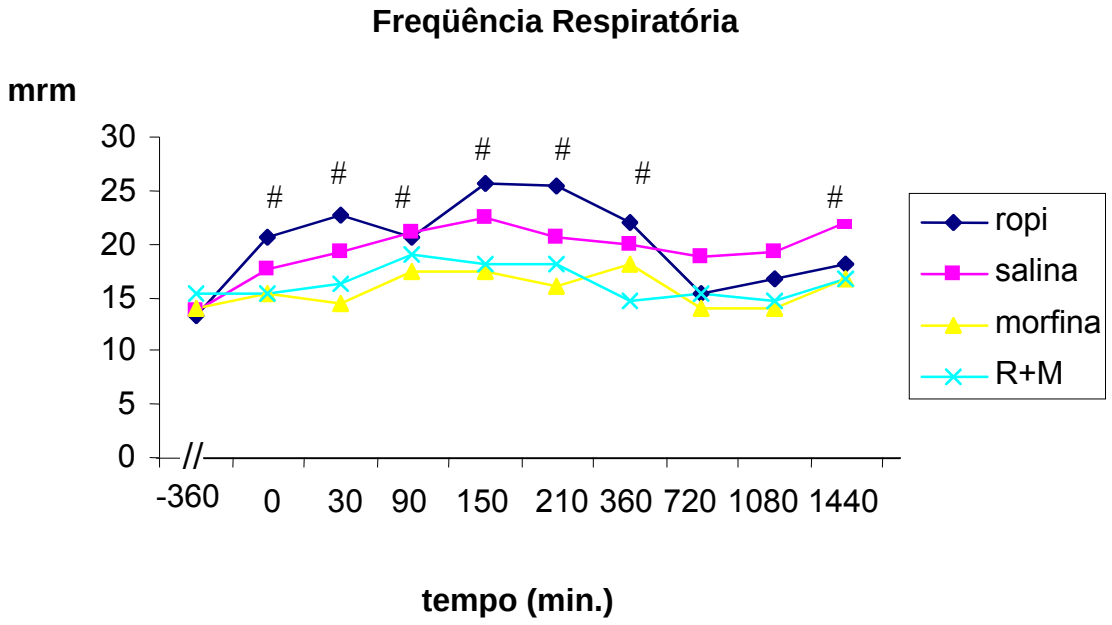


Figura 4 – Variação média da freqüência respiratória (mrm) em eqüinos submetidos a sinovite experimentalmente induzida por LPS e tratados com solução salina (G-SAL), ropivacaína (G-ROPI), ou morfina (G-MORF), ou a combinação de ambas as drogas (G-RM). # Todos os grupos são significativamente de M0 (Tukey's test [p≤0,05]).

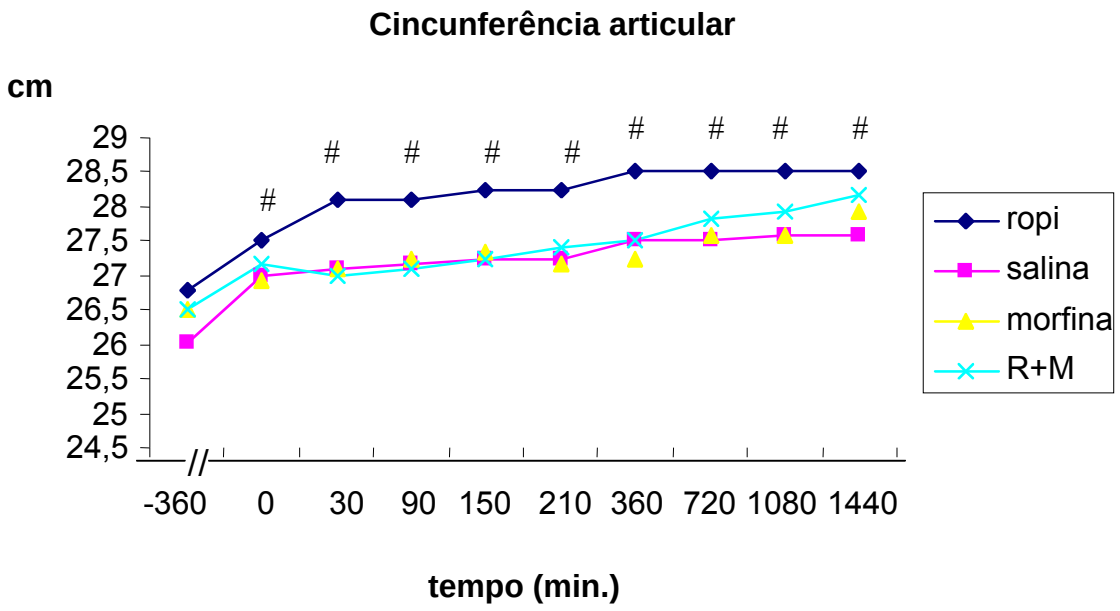


Figura 5 – Variação média da circunferência articular (cm) em eqüinos submetidos a sinovite experimentalmente induzida por LPS e tratados com solução salina (G-SAL), ropivacaína (G-ROPI), ou morfina (G-MORF), ou a combinação de ambas as drogas (G-RM). # Todos os grupos são significativamente diferente de M0 (Tukey's test [p≤0,05]).

Tabela 3 - Média ± erro padrão da média do grau de efusão de eqüinos submetidos à sinovite experimental induzida através da aplicação intra-carpal esquerda de LPS E. coli (0,5 ng/articulação) + solução salina constituindo o grupo (SAL); LPS+ ropivacaína (grupo ROPI); LPS + morfina (grupo MORF) e LPS + ropivacaina associado à morfina (grupo ROPI+MORF).

	0h†	30'	90'	150'	210'	360'	720'	1080'	1440'
G-Sal	1,16±0,16	1,66±0,20#	1,83±0,00#	2,00±0,00#	2,00±0,00#	2,00±0,00#	2,00±0,00#	2,16±0,16#	2,00±0,00#
G-Ropi	1,66±0,22	1,83±0,25#	2,00±0,16#	2,16±0,16#	2,16±0,16#	2,16±0,16#	2,16±0,16#	2,33±0,20#	2,33±0,20#
G-Morf	1,33±0,18	1,83±0,18#	1,83±0,18#	2,00±0,00#	2,00±0,00#	2,00±0,00#	2,16±0,00#	2,16±0,00#	2,16±0,00#
G-R+M	1,66±0,33	1,66±0,20#	1,66±0,20#	2,00±0,25#	2,00±0,16#	2,16±0,16#	2,16±0,16#	2,16±0,16#	2,33±0,20#

Valores Médios ± EPM; GE (0-normal 1-leve 2- moderado 3-severo); # Significativamente diferente de M0.;
† 6 h após aplicação do LPS.

A escala visual numérica de dor (EVN[16]), avaliada através do grau de claudicação variou de 0 a 3 (claudicação apenas avaliada ao trote) em todos os momentos, independentemente do grupo a que pertenciam (Fig. 6).

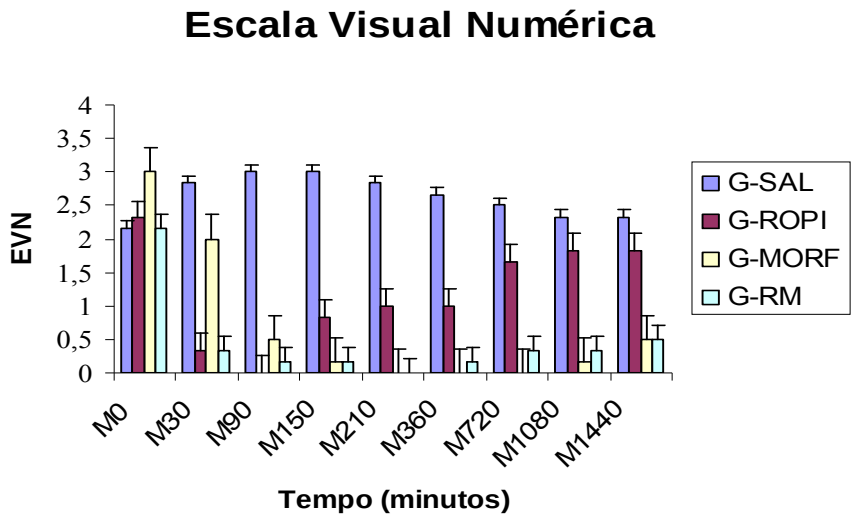


Figura 6 – Variação média da escala visual numérica (EVN) de eqüinos submetidos à sinovite experimental induzida através da aplicação intra-carpal esquerda de LPS E. coli (0,5 ng/articulação) + solução salina constituindo o grupo (SAL); ropivacaína (grupo ROPI); morfina (grupo MORF) e ropivacaína associado à morfina (grupo RM).

[16] Sigla em inglês: NRS - Numerical Rating Scale - AAEP

As variáveis EVN e ED foram analisadas e comparadas ao M0 e entre os grupos. No G-RM todas as avaliações diferiram significativamente de M0, no G-MORF apenas em M30 não houve diferença estatística significativa em ralação a M0. No G-ROPI não diferiram do M0 os momentos M720, M1080 e M1440. No G-SAL os escores de claudicação não deferiram do M0. Quando comparado entre os grupos, o escore de claudicação mostrou diferenças estatísticas importantes. Houve diferença entre G-ROPI e G-RM quando comparados aos grupos G-SAL e G-MORF em M30. Nos quatro momentos subseqüentes (M90, M150, M210 e M360) houve diminuição significativa do EVN entre G-ROPI, G-RM, G-MORF quando comparados ao G-SAL; e a partir de M720 G-MORF e G-RM diferiram significativamente dos demais grupos.

Os valores referentes à dor a palpação (variarando de 0-s/dor a 3-dor severa) ou escala descritiva de dor (ED[17]) nos grupos G-RM e G-MORF diferiram significativamente em todos os momentos em relação ao M0 (Tab.4).

Tabela 4 – Média ± erro padrão da média da escala descritiva de dor (ED) de eqüinos submetidos à sinovite experimental induzida através da aplicação intra-carpal esquerda de LPS E. coli (0,5 ng/articulação) + solução salina constituindo o grupo (SAL); LPS+ ropivacaína (grupo ROPI); LPS + morfina (grupo MORF) e LPS + ropivacaina associado à morfina (grupo ROPI+MORF).

Grupo	0h†	30’	90’	150’	210’	360’	720’	1080’	1440’
G-Sal	1,50±0,22	1,83±0,18	2,00±0	2,16±0,18	2,16±0,18	2,16±0,18	2,33±0,22#	2,00±0,33	2,00±0,33
G-Ropi	1,83±0,16	0,00±0*#	0,00±0*#	0,16±0*#	0,50±0,33*#	1,16±0,3#	1,83±0,16	1,83±0,16	1,83±0,16
G-Morf	1,66±0,2	1,00±0,36#	0,66±0,2#	0,33±0,2*#	0,16±0,16*#	0,00±0*#	0,00±0*#	0,00±0*#	0,00±0*#
G-R+M	1,66±0,33	0,00±0*#	0,00±0*#	0,00±0*#	0,50±0,31*#	0,50±0,31*#	0,83±0,3*#	0,83±0,3*#	0,86±0,4*#

Valores Médios ± EPM; ED (0-s/dor 1-leve 2- moderada 3-severa) ; * Significativamente diferente dos outros grupos; # Significativamente diferente de M0; † 6 h após aplicação do LPS.

[17] Sigla em inglês: SDS - Single Descriptive Scale – AAEP/IVAPM

No G-ROPI não houve diminuição significativa do escore em ralação a M0 nos momentos M720, M1080 e M1440. No G-SAL o escore em M720 aumentou significativamente em relação a M0.

Quando comparados em M30 e M90, G-RM e G-ROPI diferiram estatisticamente dos demais grupos. Em M150 e M210 os grupos G-ROPI, G-MORF, G-RM obtiveram uma diminuição significativa do escore em relação ao grupo placebo.

Nos momentos M360, M720, M1080 e M1440, os grupos G-MORF e G-RM mostraram diferença estatística significativa quando comparados ao grupo G-SAL e G-ROPI.

A temperatura local aumentou significativamente 6 horas após a aplicação do LPS e se manteve alta em GSAL e GROPI até o final das avaliações (Tab. 5). Houve diminuição significativa da temperatura local entre os grupos GMORF e GRM em relação aos demais 18 horas após a administração dos tratamentos.

Tabela 5 - Média ± erro padrão da média da temperatura local (°C) de eqüinos submetidos à sinovite experimental induzida através da aplicação intra-carpal esquerda de LPS E. coli (0,5 ng/articulação) + solução salina (grupo SAL); LPS+ ropivacaína (grupo ROPI); LPS + morfina (grupo MORF) e LPS + ropivacaina associado à morfina (grupo ROPI+MORF).

Membro	Grupo	Tempo(minutos)			
		Basal (07:00)	**0†** (13:00)	**780** (01:00)	**1080** (07:00)
CD	SAL	22,91±1,51	26,33±2,44	25,83±1,99	23,5±2,42
CE		23,16±1,43	34,08±0,45	34,7±0,76	33,58±0,72
≠		**0,25**	**7,75#**	**8,87#**	**10,08#**
CD	ROPI	22,25±1,50	25,00±2,15	23,33±1,76	23,91±2,29
CE		23,00±1,41	32,91±1,05	34,00±0,68	34,08±0,49
≠		**0,75**	**7,91#**	**10,67#**	**10,17#**
CD	MORF	22,25±1,33	26,44±2,18	26,66±2,38	25,16±1,96
CE		22,91±1,48	33,83±0,82	33,58±0,55	31,41±0,93
≠		**0,66**	**7,39#**	**6,92#***	**6,25#***
CD	ROPI+MORF	22,91±1,89	25,66±2,68	25,76±2,24	25,83±2,01
CE		23,00±1,66	32,91±1,23	32,75±0,23	32,08±0,45
≠		**0,09**	**7,25#**	**6,99#***	**6,25#***

Significativamente diferente do Basal
* Significativamente diferente dos outros grupos
† Momento da administração dos tratamentos ou 6h após a injeção do LPS
CD = carpo direito (controle) CE = carpo esquerdo

Em G-SAL todos os animais demonstraram dor à flexão máxima (DFM) da articulação antebraquio-cárpica 6h após a aplicação do LPS. Em G-ROPI um animal (16%) demonstrou DFM 210 minutos após o tratamento (M0); 3 animais (50%) sentiram dor em M360, e 83% dos animais sentiram dor nos momentos finais (M720; M1080 e M1440). No G-MORF nenhum animal apresentou DFM nos momentos após a administração da droga teste, ao passo que em G-RM apenas um animal apresentou DFM a partir do M210; e um animal apresentou DFM apenas em M1440.

Todos os animais continuaram a apoiar o peso no membro acometido no chão durante as 24 horas de avaliação, recebendo escore zero antes da realização da artrocentese e este valor retornou a nulidade após 48h da indução da sinovite.

4.2.Líquido sinovial

O líquido sinovial apresentou padrão inflamatório que persistiu durante todo o período de observação. A sua turbidez e coloração mudaram ao longo do estudo, independentemente dos tratamentos. A turbidez variou de um líquido límpido e translúcido a um líquido intensamente turvo. A coloração variou de amarelo claro a uma coloração vermelha e/ou acastanhada.

Houve um aumento significativo nos valores da densidade (Tab.7) e das proteínas (Fig.7) totais nos momentos de coleta em todos os grupos, quando comparados a M0. Não houve diferença entre os tratamentos em nenhum dos tempos estudados.

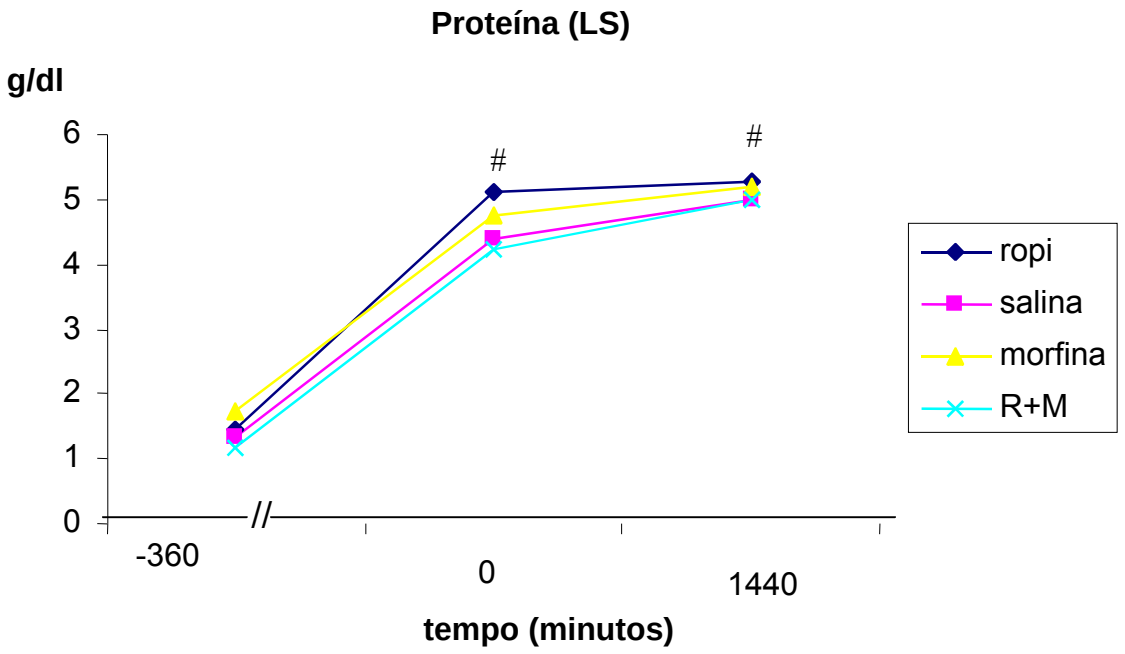


Figura 7 – Variação média da proteína total (g/dl) em eqüinos submetidos à sinovite experimentalmente induzida por LPS e tratados com solução salina (G-SAL), ropivacaína (G-ROPI), ou morfina (G-MORF), ou a combinação de ambas as drogas (G-RM). # Todos os grupos são significativamente diferente de M0 (Tukey's test [p≤0,05]).

A qualidade de precipitação da mucina diminuiu significativamente nos momentos de avaliação do liquido sinovial em relação a M0 e variaram de coágulo bom a coágulo péssimo (Tab.7). Não houve diferença significativa entre os grupos.

Tabela 6 -Média ± erro padrão do teste de qualidade de precipitação da mucina (TQPM) de eqüinos submetidos à sinovite experimental induzida através da aplicação intra-carpal esquerda de LPS E. coli (0,5 ng/articulação) + solução salina (grupo SAL); LPS+ ropivacaína (grupo ROPI); LPS + morfina (grupo MORF) e LPS + ropivacaina associado à morfina (grupo ROPI+MORF).

	Grupo	Tempo (horas)		
		-360†	0**	1440
TQPM	SAL	4,00±0,0	2,66±0,33*	2,00±0,2*
	ROPI	4,00±0,0	3,16±0,3*	3,00±0,51*
	MORF	4,00±0,0	2,5±0,22*	2,33±0,49*
	ROPI+MORF	4,00±0,0	2,33±0,2*	2,33±0,42*

* Significativamente diferente de M0; † Momento da indução da sinovite; **Momento no qual instituiu-se os tratamentos descritos; Tukey test (p<0,05). TQPM - Em ordem crescente de qualidade, onde: **4**-Bom; **3**-Regular; **2**- Ruim; **1**- Péssimo

O pH do líquido sinovial diminuiu significativamente em todos os momentos quando comparado a M0, e houve diferença estatística significativa entre G-ROPI e os demais grupos em M6 (Tab. 7).

Tabela 7 – Dados de avaliação da densidade e do pH do líquido sinovial seguidas da administração do LPS nos diferentes grupos.

Dose LPS (ng/artic.)	Grupo	Tempo (minutos)	Densidade	pH
0,5	Salina	-360	1,014± 0,001	8,00 ±0,00
		0	1,032 ± 0,002 *	7,66 ± 0,10*
		1440	1,036 ± 0,001*	7,58 ± 0,15*
	Ropivacaína	-360	1,015±0,001	8,00±0,00
		0	1,035 ± 0,002*	7,08 ± 0,08*#
		1440	1,037 ± 0,001*	7,41 ± 0,08*
	Morfina	-360	1,016±0,002	7,91±0,08
		0	1,034 ± 0,002*	7,50 ± 0,18*
		1440	1,037 ± 0,001*	7,66 ± 0,16*
	Ropi+Morf	-360	1,013±0,0008	8,08±0,08
		0	1,029 ± 0,003*	7,66 ± 0,16*
		1440	1,036 ± 0,001*	7,66 ± 0,10*

LPS = lipopolissacarídeo *E.coli*; CNT = Células nucleadas totais; pH = potencial de hidrogênio.
#Significativamente diferente dos demais grupos. * Significativamente diferente de M0.

Um aumento significativo ocorreu nas células nucleadas totais do líquido sinovial 6h após a administração intra-articular do LPS em ralação a M0 (Tab. 8). Houve diferença em M1440 entre os grupos G-ROPI, GMORF e GRM em relação à GSAL. As células nucleadas em sua maioria eram compostas por neutrófilos e células mononucleares.

Tabela 8 - Média ± erro padrão da média de eritrócitos($x10^6$ céluas/µl) células nucleadas totais($x10^3$ céls/µl) (CNT), neutrófilos ($x10^3$ céls/µl) e mononucleares (céls/µl) existentes no líquido sinovial de cavalos submetidos à sinovite experimental induzida através da aplicação intra-carpal esquerda de LPS E. coli (0,5 ng/articulação) + solução salina (grupo SAL); LPS+ropivacaína (grupo ROPI); LPS + morfina (grupo MORF) e LPS + ropivacaina associado à morfina (grupo ROPI+MORF).

Células	Grupo	Tempo (minutos)		
		-360†	0**	1440
Eritrócitos	SAL	0,29±0,24	72±31,65*	764±253,27*#
($x10^6$ céls/µl)	ROPI	0,137±0,07	103±44,52*	277±134,37*
	MORF	0,036±0,005	126±53,14*	144±72,79*
	ROPI+MORF	0,23±0,09	410±224,78*#	381±111,39*
CNT	SAL	0,13±0,03	129,54±11,59*	109,04±25,45*#
($x10^3$ céls/µl)	ROPI	0,19±0,11	128,16±22,36*	91,60±21,43*
	MORF	0,11±0,03	110,50±22,53*	64,85±25,22*
	ROPI+MORF	0,07±0,008	130,45±33,85*	57,14±15,82*
Mononucleares	SAL	108,77±24,41	7947±24,4*	5963±21,1*
(céls/µl)	ROPI	98,65±23,73	5445±21,33*	7099±33,34*
	MORF	109,27±35,72	4966±24,45*	7287±23,44*
	ROPI+MORF	67,14±10,9	7494±23,33*	5919±21,22*
Neutrófilos	SAL	0,023±0,01	121,59±9,75*	103,07±23,7*#
($x10^3$ céls/µl)	ROPI	0,083±0,05	122,71±21,11*	84,50±21,6*
	MORF	0,003±0,004	105,53±21,03*	57,56±23,57*
	ROPI+MORF	0,007±0,003	122,32±32,48*	51,22±13,77*

Significativamente diferente dos outros grupos. * Significativamente diferente de T0; † Momento da indução da sinovite; **Momento no qual instituiu-se os tratamentos descritos; Tukey test ($p<0,05$).

Os neutrófilos e as células mononucleares aumentaram significativamente após a indução, nos tempos M0 e M1440, diferenciando-se estatisticamente dos valores basais. Houve diferença estatística nos valores de neutrófilos no M1440 entre os grupos GROPI, GMORF, GRM em relação à GSAL.

Houve aumento significativo de eritrócitos no líquido sinovial nos momentos de análise em todos os grupos, e as médias diferiram estatisticamente do basal (M0).

5 – DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Os sinais clínicos de sinovite observados neste estudo reproduziram àqueles descritos por Palmer e Bertone (1994a), que ao utilizarem o mesmo modelo de indução de sinovite, obtiveram sinais clínicos semelhantes à sinovite aguda ocorrida naturalmente. Este é o principal motivo pelo qual este modelo foi utilizado, possibilitando-se avaliar desta forma os efeitos de fármacos analgésicos como o cloridrato de ropivacaína e o sulfato de morfina no controle da dor advinda da inflamação experimentalmente induzida.

Modelos que simulem doenças articulares em eqüinos são necessários para se responderem a questões com relação à patofisiologia da dor articular. O uso intra-articular do LPS dentro da articulação cárpica em pôneis e cavalos foi relatado anteriormente usando dosagens iguais (PALMER & BERTONE, 1994a; TODHUNTER et al, 1998) ou muito maiores do que as utilizadas neste estudo (FIRTH et al, 1987; HAWKINS et al, 1993; EASTER et al, 2000).

Os achados deste presente estudo estão de acordo com Palmer e Bertone (1994a), onde se descreveu que doses de até 0,5 ng/articulação de LPS injetados dentro da articulação antebráquio-cárpica foram capazes de induzir sinovite clinicamente similar a sinovite aguda, com aumento da contagem total de células nucleadas e da proteína no líquido sinovial, e principalmente pela presença de dor com o apoio do membro afetado no chão. Por haverem

similaridades entre os dois estudos, a administração de LPS de *E.coli* permite o estudo de possíveis agentes terapêuticos no controle da dor advinda de patologias articulares.

Vários foram os achados deste estudo: a sinovite induzida não mostrou evidencias de endotoxemia corroborando com Palmer e Bertone (1994ab) que utilizaram doses equivalentes. Entretanto a análise mostra aumento significativo das células nucleadas totais do líquido sinovial em todos os grupos 6 horas após a aplicação do LPS, porém esse aumento manteve-se significativo apenas no grupo controle (placebo). Nos demais grupos houve diminuição significativa das células inflamatórias ao final das análises.

Os animais apresentaram aumento da freqüência cardíaca e respiratória quando comparados aos valores basais, porém encontrava-se dentro dos valores normais para espécie eqüina obedecendo-se seu ciclo circadiano que variou de acordo com a alteração (25 a 30°C) da temperatura ambiente.

A ausência de aumento da temperatura corpórea apesar do aumento da temperatura local e da contagem de células nucleadas totais do liquido sinovial ($130,45x10^3/mm^3$- GRM) foram similares às observadas por Palmer e Bertone (1994a) ($122x10^9/l$) e por Campebell et al (2004) ($118,5x10^3/mm^3$). Isto demonstra que a dose utilizada neste estudo foi efetiva para induzir resposta inflamatória local leve a moderada sem, no entanto causar efeitos adversos observáveis nos exames laboratoriais.

As alterações bioquímicas e celulares do líquido sinovial foram observadas em todos os grupos, e provavelmente estejam relacionadas à seguidas artrocenteses, apesar de Coppo et al. (1988) mostrar que a repetição da colheita sinovial não altera a celularidade do líquido sinovial, Hussni et al (1996) descrevem uma alteração significativa na bioquímica e celularidade do liquido sinovial devido a seguidas artrocenteses.

As alterações encontradas na coloração, turbidez e densidade do líquido sinovial provavelmente ocorreram pela reação inflamatória ocorrida como descrito por Tulamo et al (1996).

O uso do membro contralateral como controle na avaliação da temperatura local, como descrito por Hawkins et al. (1993) mostra que houve uma progressão e, por conseguinte um aumento significativo da temperatura ao longo do tempo.

A dose de LPS utilizada neste presente estudo causou claudicação leve à moderada (2-3), 6h após a indução da inflamação (M0). Em média houve uma variação de 2,33 a 3 no G-SAL, de 0 a 1,83 no G-ROPI, de 0 a 2 no G-MORF e de 0 a 0,5 no G-RM durante todo o período de avaliação. Todos os animais continuaram a apoiar o membro anterior esquerdo no chão, diferentemente do que Firth et al (1987) descreveu quando utilizaram dosagens bem superiores as descritas neste estudo. A diminuição significativa na média dos escores em GROPI até M360 foi considerado levando-se em conta a análise estatística empregada, porém clinicamente esta diminuição foi significativa apenas até M150 onde o EVN não ultrapassou a escala 1. Não houve diminuição na média dos escores em M30 em GMORF pois o período de latência da droga por esta via é de até uma hora segundo Keates et al (1999).

O aumento da circunferência articular foi similar (até 1,7 cm em relação ao basal) aos valores descritos por Palmer e Bertone (1994a) (até 1,5 cm de diferença em relação ao basal) e por Campebell et al (2004) (até 1,7 cm de diferença em relação ao basal) usando doses de 0,5 e 1,5 ng/articulação, respectivamente.

O aumento da contagem de eritrócitos que ocorreu no líquido sinovial em todos os grupos demonstra as alterações causadas pelas seguidas punções articulares, onde a hemorragia intra-sinovial é facilmente produzida por traumas causados à membrana sinovial inflamada (TODHUNTER & LUST, 1990). Este aumento significativo dos eritrócitos no líquido sinovial em todos os grupos (mais pronunciado em GSAL em M1440) ao longo do

tempo de estudo, sugere que o efeito local do LPS fez aumentar a permeabilidade vascular (efusão articular) da membrana sinovial observados aqui neste estudo 6h após a administração do LPS como descritos por Firth et al (1987).

O aumento da permeabilidade vascular fez com que houvesse aumento da circunferência articular devido à extensa efusão. Este aumento da circunferência se deve a resposta inflamatória mediada localmente por neutrófilos e que pode ser confirmada neste estudo pelo aumento significativo dos neutrófilos no líquido sinovial em todos os grupos. Estes resultados são similares aos encontrados por Hawkins et al (1993); resultados estes caracterizados por aumento na contagem de neutrófilos no líquido articular, típico de uma resposta inflamatória aguda.

O aumento encontrado nos valores de proteínas totais do líquido sinovial (5,30 g/dl no G-ROPI em M30) foram observados 30h após (M1440) a administração da endotoxina. Dados semelhantes foram descritos por Palmer e Bertone (1994a) em que os valores de proteínas totais no líquido sinovial chegaram a 5,93g/dl 12h após a administração do LPS.

A dosagem de LPS utilizada neste estudo não provocou mudanças clínicas significativas nos sinais vitais e não foi suficiente para causar mudanças na linhagem vermelha e branca do sangue periférico, nem nos parâmetros hematológicos, corroborando com o estudo realizado por Palmer e Bertone (1994a) que utilizaram doses de até 0,5ng de LPS dentro da articulação cárpica.

Os achados aqui estudados indicam que a administração intra-articular de cloridrato de ropicavaína promoveu um alívio rápido (30 minutos) da dor gerada pela sinovite aguda, enquanto a administração de sulfato de morfina, apesar de um inicio de ação mais lento (período de latência de 30’ a 60’) que a ropivacaina, possuiu um prolongamento dos efeitos analgésicos por até 24h. Entretanto a combinação do anestésico local ropivacaína com a morfina significativamente promoveu uma melhor analgesia, pois promoveu uma analgesia

durante todo o período de avaliação da sinovite. Em trabalhos em humanos, Franceschi et al (2001) relatam que a ropivacaina quando administrada pela via intra-articular após artroscopias da articulação fêmoro-tibio-patelar, mostrou um inicio de ação mais rápido do que a morfina, corroborando o presente estudo, porém, quando comparado à morfina a mesma duração de analgesia, provocando uma analgesia que abrangeu todo o período pós-operatório. Talvez isso se deva ao fato da articulação em estudo não estivesse passando por um processo inflamatório agudo. Sabe-se que os anestésicos locais perdem sua capacidade de ação em tecidos onde o pH difere do fisiológico (KEATES et al, 1999). Resultados semelhantes foram descritos por Rasmussen et al (2004), quando cita que houve diminuição significativa da dor articular em pessoas encaminhadas a cirurgias artroscópicas e tratados com ropivacaina e morfina continuamente.

A presença de receptores opióides em tecidos periféricos tem sido um tema controverso tanto em relatos de ciências básicas como em relatos de literatura, entretanto sabe-se que há um envolvimento direto de receptores μ na analgesia periférica (LEVINE & TAIWO, 1989). Os achados mais recentes apontam a evidencia imunocitoquímica de que os receptores opióides periféricos não só estão presentes anatomicamente (STEIN et al, 1991), mas também são ativados em tecidos inflamados (STEIN et al, 1996; KEATES et al, 1999; ANTONIJEVIC et al, 1995) e que medeiam os estímulos nociceptivos da inflamação (PARSONS et al, 1990).

No presente estudo, a ropivacaina e a morfina foram administrados seis horas após a injeção do LPS, mostrando que houve uma inibição da atividade antiinflamatória (CNT e neutrófilos), detectada 24h após a administração dos tratamentos em GMORF e GRM.

Através de experimentos piloto aguardou-se o período de tempo 6 horas para a aplicação dos tratamentos, pois esse tempo fora suficiente para criar uma inflamação associada a dor articular.

Os resultados expostos podem demonstrar que a ropivacaina (MARTINSSON et al, 1997) e a morfina (KEATES et al, 1999) administradas pela via intra-articular, nas dosagens aqui relatadas, produziram diminuição da atividade inflamatória. Nenhum dos pacientes desenvolveu reações sistêmicas de intoxicação ou efeitos colaterais devido à administração das drogas aqui estudadas, informação esta que corrobora com Doss et al (2001). A administração intra-articular de 0,5 ng de LPS neste modelo experimental de inflamação articular criou uma transitória inflamação com aumento das células nucleadas totais no liquido sinovial, bem como na concentração da proteína total associados com alterações físicas e bioquímicas, e efeitos clínicos suficientes para se testar os fármacos aqui testados. A aplicação clínica de cloridrato de ropivacaína 1%, um novo anestésico local, promoveu analgesia rapidamente com efeitos que perduraram em média até 150 minutos em tecidos inflamados. A morfina apesar de um início de ação mais lento mostrou um prolongamento dos efeitos analgésicos quando comparado a ropivacaína. Quando em combinação com a ropivacaína promoveu uma analgesia intra-articular com rápido inicio de ação e analgesia de até 24h em cavalos submetidos à sinovite experimental.

Apesar do seu custo ser mais elevado que o da morfina, a ropivacaína mostrou ser um anestésico seguro, com rápido início de ação, porém com curto efeito analgésico em tecidos inflamados. A administração concomitante da ropivacaína e da morfina pela via intra-articular é uma opção complementar de tratamento analgésico, e representam uma opção viável no alívio da dor proveniente das sinovites agudas. A ausência de efeitos colaterais por esta via sugere que os opióides, como a morfina, podem ser uma nova e promissora classe de agentes aplicados pela via intra-articular em doenças articulares e que podem nos levar ao desenvolvimento de uma nova geração de drogas analgésicas e com possivelmente grande potencial antiinflamatório. Porém, são necessários mais estudos clínicos destas duas classes de drogas pela via intra-articular na espécie eqüina, verificando a ação da ropivacaína e da

morfina em tecidos não inflamados; e em particular a administração continua de morfina pela via i.a necessita ser mais bem investigada em casos de processos dolorosos articulares crônicos.

6 - REFERÊNCIAS

AAEP. **Guide for veterinary service and judging of equestrian events**. American Association of Equine Practitioners, 1991, 149p.

ABBAS, A.K. e LICHTMAN, A. H. **Cellular and Molecular Immunology**. 5ª ed. Saunders. Philadelphia, 2003, pág.33.

AGUIAR, A.J.A. Bloqueios intra-articulares em eqüinos In: ENCONTRO DE ANESTESIOLOGIA VETERINÁRIA, VII, São Luís, 2005. **Anais...** São Luís, MA: Colégio Brasileiro de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária, p.66-76, 2005.

ANTONIJEVIC, I.; MOUSA, S.A; SCHAFER, M. et al. Perineural defect and peripheral opioid analgesia in inflammation. **The Journal of Neuroscience** v.15, n.1, p.165-172, 1995.

BADNER, N.H.; BOURNE, R.B.; RORABECK, C.H. et al. Addition of morphine to intra-articular bupivacaine does not improve analgesia following knee joint replacement. **Regional Anesthesia** v.22, n.4, p.324-350, Jul/Aug. 1997 [Abstract].

BARNABÉ, P. A.; CATTELAN, J.W; CADIOLI, F.A. et al. Características físico-químicas e citológicas do líquido sinovial da bainha tendínea digital de eqüinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** v.57, n.3, p.288-294, 2005

BENNETT, R.C. e 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.

BRINKER, W.O., PIERMATEI, D.L., FLO, G.L. **Manual de ortopedia e tratamento das fraturas dos pequenos animais.** São Paulo: Manole, 1986. 463p.

BROCK et al. **Biology of Microorganisms** 7ª ed. Prentice Hall International Editions Inc., 1994, pag.77.

CAMPEBELL, R.C.; PEIRÓ, J.R; VALADÃO, V.A.A et al. Effects of lidocaine on lipopolyssacharide-induced synovitis in horses. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** v.56, n.3, p.281-291, 2004.

CEPEDA, M.S.; URIBE, C.; BETANCOURT, J. et al. Pain relief after knee arthroscopy: intra-articular morphine, intra-articular bupivacaine, or subcutaneous morphine. **Regional Anesthesia** v.22, n.3, p.233-238 May/Jun.1997. [Abstract].

COLES, E. H. **Veterinary Clinical Pathology** England: Saunders, W.B., 1984, 566 p.

COPPO, J.A.; SANDOVAL, G.L.; PEREZ, O.A. Análisis de líquido sinovial para la tipificación de artropatías del equino. **Rev. Med. Vet.**, v.69, p.77-87, 1988.

CORNELISSEN, B.P.; RIJKENHUIZEN, A.B; van den HOOGEN, B.M et al Experimental model of synovitis /capsulitis in the equine metacarpophalangeal joint. **American Journal of veterinary Research** v.59, n.8, p.978-85, Aug. 1998. [Abstract].

CURTISS, P.H. Changes produced in the synovial membrane and synovial fluid by disease. **Journal of Bone and Joint Surgery**, v.46-A, p.873–878, 1964.

DAYER, J.M.; BEUTLER, B; CERAMI, A. Cachectin tumor necrosis factor stimulate collagenase and protaglandinE2 production by human synovial cells and dermal fibroblasts. **The Journal of Experimental Medicine**. v.162, p.2163-2168, 1985.

DOSS, N. W.; SPLAIN, S.P.; CRIMI, T. et al. Intra-articular morphine, ropivacaine, and morphine/ropivacaine for pain control after arthroscopy: Preliminary observation. **Proceedings of the Western Pharmacology Society** v.44, p.195-196, 2001.

DROSOS, G.I.; VLACHONIKOLIS, I.G.; PAPOUTSIDAKIS, A.N. Intra-articular morphine and postoperative analgesia after knee arthroscopy. **The knee** v.9, p.335-340, 2002.

EASTER, J.L.; WATKINS, J.P.; STEPHENS, S.L. et al. Effects of regional anesthesia on experimentally induced coffin joint synovitis. **American Association of Equine Practioners (AAEP) Proceedings** v.46, p.214-216, 2000.

FERNANDEZ, F.R., GRINDEM, C.B., LIPOWITZ, A.J. et al. Synovial fluid analysis: Preparation of smears for cytologic examination of canine synovial fluid. **Journal of the American Animal Hospital Association** v.19, p.727-734, 1983.

FRANCESCHI, F.; RIZZELLO, G.; CATALDO, G. et al. Comparison of morphine and ropivacaine following knee arthroscopy. **Arthroscopy: The journal of Arthroscopy and Related Surgery**. v.17, n.5, p.477-480, May/June. 2001.

FIRTH, E.C.; WENSING, T; SEUREN, F. An induced synovitis disease model in ponies. **Cornell Veterinary** v.77, p.107-118, 1987.

GOODWIN, R.C.; AMJADI, F.; PARKER, R.D. Short-term analgesic effects of intra-articular injections after knee arthroscopy. **Arthroscopy: The journal of arthroscopy and related surgery** v.21, n.3, p.307-312, 2005.

GREENE, S.A. **Veterinary Anaesthesia and Pain Management.** Philadelphia: Hamley & Belfus, 2002, pág. 33.

HALL, L.W.; CLARKE, K.W.; TRIM, C.M. **Veterinary Anaesthesia.** England: Saunders, W.B., 2001, pág.105.

HARKINS, J.D.; KARPIESIUK, W.; LEHNER, A. et al. Ropivacaine in the horse: its pharmacological responses, urinary detection and mass spectral confirmation. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics** v.24, p.89-98, 2001.

HAWKINS, D.L.; McKEY, R.J.; GUM, G.G et al. Effect of intra-articularly administered endotoxin on clinical signs of disease and synovial fluid tumor necrosis factor, interleukin 6, and prostaglandin E2 values in horses. **American Journal of Veterinary Research** v.54, p.379-386, 1993.

HOULTON, J. Ancillary aids to the diagnosis of joint disease. In: HOULTON, J., COLLINSON, R. (Ed.). **Manual of small animal arthrology**. Iowa: BSAVA, 1994. p.22-38.

HUSSNI, C.A.; LOPES, R.S.; NICOLETTI, J.L.M. et al. Efeitos da artrocentese carpal seriada em equinos. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE CIÊNCIAS VETERINÁRIAS, Campo Grande, 1996. **Proceedings...** Campo Grande, 1996.

JAUREGUITO, J.W.; WILCOX, J.F.; THISTED, R.A. et al. The effects of morphine on human articular cartilage of the knee: an in vitro study. **Arthroscopy: The journal of Arthroscopy and Related Surgery**. v.18, n.6, p.631-636, July/Aug. 2002.

KEATES, H.L.; CRAMOND**,** T.; SMITH, M.T**.** Intra-articular and periarticular opioid binding in inflamed tissue in experimental canine arthritis. **Anesthesia and Analgesia** v.89, p.409, 1999.

LANDY, M.; BAKER, P. **Journal of Immunology**, v.97, p.670, 1966.

LEME, F.O.P.; ALVES, G.E.S; MARQUES Jr., A.P. et al. Líquido sinovial de eqüinos: proteína, celularidade e precipitação de mucina, a fresco, após refrigeração e congelamento. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 1, p. 33-37, 1999.

LEVINE, J.D.;TAIWO, Y.O. **Neuroscience** v.32, p.571, 1989.

LIKAR, R.; MOUSA, S.A.; PHILIPPITSCH, G. et al. Increased numbers of opioid expressing inflammatory cells do not affect intra-articular morphine analgesia. **British Journal of Anaesthesia**. v.93, n.3, p.375-80, 2004.

LIPOWITZ, A.J. Synovial fluid. In: NEWTON, C.D., NUNAMARKER, D.M. (Ed.). **Textbook of small animal orthopaedics.** Philadelphia: Lippincott, 1985. p.1015-1028.

MAHAFFEY, E.A. Synovial fluid. In: COWELL, R.L., TYLER, R.D. (Ed.). **Cytology and hematology of the horse**. Philadelphia: Mosby, 1992. p. 153-161.

MARTINSSON, T.; ODA, T; FERNVIK, E. et al. Ropivacaine Inhibits Leukocyte Rolling, Adhesion and CD11b/CD18 Expression **Pharmacology and Experimental therapeutics** Vol. 283,n1, pág. 59-65, 1997.

McCLURE, J.H. Ropivacaine. **British Journal of Anaesthesia** v.76, p.300-307, 1996.

McILWRAITH, C.W. Diseases of joints, tendons, ligaments, and related structures. In: STASHAK, T.S.(Ed.). **Adam's Lameness in horses**. 2.ed. Philadelphia: Lea & Febiger,1987.p.339-485.

MONTEIRO, E.A.S. Anestésicos locais: O que há de novo? In: ENCONTRO DE ANESTESIOLOGIA VETERINÁRIA, VII., São Luís, 2005. **Anais...** São Luís, MA: Colégio Brasileiro de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária, p.8-12, 2005.

MOYER, W. Clinical use of synovial fluid analysis. In: ANNUAL CONVENTION OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS, 28., 1982, Georgia. **Proceedings...** [s.l.]: American Association of Equine Practitioners, 1983. p.129–135.

PARSONS, C.C.; CZLONKOWSKI, A.; STEIN, C. et al. **Pain** v.41, p.81, 1990.

PALMER, J.L.; BERTONE, A.L. Experimentally induced synovitis as a model for acute synovitis in the horse. **Equine Veterinary Journal** v.26, p.492-495, 1994a.

PALMER, J. L.; BERTONE, A. L. Joint structure, biochemistry and biochemical disequilibrium in synovitis and equine disease. **Equine Veterinary Journal** v. 26, n. 4, p. 263-277,1994b.

PERMAN, V. Synovial fluid. In: KANEKO, J.J. (Ed.). **Clinical biochemistry of domestic animals.** 3.ed. New York: Academic, 1980. p.749-83.

POZZOBON, R, BRASS, K.E.; DE LA CORTE,F.D. Efeito do uso de parecoxib no modelo de sinovite induzida em eqüinos.Disponivel em**:** **http://coralx.ufsm.br/ppgmv/seminarios2005/RicardoPozzobon.pdf** Acesso em: **21 de Julho de 2007.**

RAUTOMA, P.; SANTANEN, U.; AVELA, R. et al. Diclofenac premedication but not intra-articular ropivacaine alleviates pain following day-case knee arthroscopy. **Canadian Journal of Anesthesiology** v.47, n.3, p.220-224, 2000.

RASMUSSEN, S.; KRAMHOFT, M.U.; SPERLING, K.P. et al. Increased flexion and reduced hospital stay with continuous intra-articular morphine and ropivacaine after primary total knee replacement. **Acta Orthopedica Scandinavica** v.75, n.5, p.606-609, 2004.

RUMBAUGH, M.L.; BURBA, D. J.; TETENS, J. et al. Effects of intra-articular injection of liquid silicone polymer in the equine middle carpal joint. In:_50th Annual Convention of the American Association of Equine practitioners, 2004 - Denver, EUA, Ed. :American Association of Equine Practitioners, Lexington, KY. Disponivel em: **www.ivis.org**. Acesso em: **21 de setembro de 2005.**

SAKLATVALA, J. Tumor necrosis factor α stimulates resorption and inhibits synthesis of proteoglycan in cartilage. **Nature** v.322 p. 547-549, 1986.

SAMMARCO, J.L.; CONZEMIUS, M.G.; PERKOWSKI, S.Z. et al. Postoperative analgesia for stifle surgery: a comparison of intra-articular bupivacaine, morphine or saline. **Veterinary Surgery** Jan-Feb.; v.25, n.1, p.59-69, 1996.

SAWYER, D.C. Synovial fluid analysis of canine joints. **Journal of the American Veterinary Medical Association** v.143, p.609-612, 1963.

SNYDERMAN, R. Mechanisms of inflammation and leucocyte chemostaxis in the rheumatic disease. **Medical Clinics of North America**, v.70, p.217-234, 1986.

SHEEHY, J.G.; HELLYER, P.W.; SAMMONDS, G.E. et al. Evaluation of opioid receptors in synovial membranes of horses. **American Journal of Veterinary Research** v.62, n.9, p.1408-12, Sep. 2001.

STASHAK, T.S. **Claudicação em eqüinos:** Segundo Adams. Tradução de Cristiano R. M. von Simson. 4 ed. São Paulo: Roca, 1994. p. 148-149.Título original: Adams' Lameness in Horses.

STEIN, A.; YASSOURIDIS, A.; SZOPKO, C. et al. Intraarticular morphine versus dexamethasone in chronic arthritis. **Pain** v.83, p.525-532, 1999.

STEIN, C. Peripheral Morphine Analgesia and Opioid Expression in Inflamed Tissue. **Journal of Clinical Investigation** v.98, n.3, p.793-799, 1996.

STEIN, C.; COMISEL, K.; HAIMERL, E. et al. Analgesic effect of intra-articular morphine after arthroscopic knee surgery. **The New England Journal of Medicine**. v.325, n.16, p.1123-1126, 1991. [Abstract].

TAYLOR, P.M. Pharmacological approaches to pain management in the horse. In:_50th Annual Convention of the American Association of Equine practitioners-AAEP, 2005 - Seattle, EUA, Ed. :American Association of Equine Practitioners, Lexington, KY. Disponivel em: **www.ivis.org**. Acesso em: **21 de setembro de 2005.**

TEW, W.P. e HOTCHKISS, R.N. Synovial fluid analysis and equine joint disorders. **Journal of Equine Veterinary Science** v.1, p.163-170, 1981.

TODHUNTER, R. J.; FUBINI, S. L.; SINGER, M. V. et al. Acute synovitis and intra-articular methylprednisolone acetate in ponies. **Osteoarthritis and Cartilage** v.6, p. 94-105, 1998.

TODHUNTER, R. J.; LUST, G**.** Pathophysiology of synovitis: Clinical Signs and Examination in Horses **Cornell University: Continuing Education Article** v. 12, n.7, p. 980-991, 1990.

TROTTER, G.W.; McILWRAITH, C.W. Clinical features and diagnosis of equine joint disease. In: McILWRAITH, C.W; TROTTER, G.W. (Eds.). **Joint disease in the horse.** Philadelphia: WB Saunders, 1996. p.120-145.

TULAMO, R.M.; RAEKALLIO, M.; TAYLOR, P. et al. Intra-articular morphine and saline injections induce release of large molecular weight proteoglycans into equine synovial fluid. **Zentralbl Veterinarmed A.** v.43, n.3, p.147-53, May. 1996.

VALVERDE, A.; GUNKELC.I. Pain management in horses and farm animals. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care** v.15, n.4, p.295-307, 2005.

VAN PELT, P.W. Interpretation of synovial fluid findings in the horse**. Journal of the American Veterinary Association** v.165, p.91-95, 1974.

VAN PELT, P.W. Properties of equine sinovial fluid. **Journal of the American Veterinary Association** v.141, p.1051-1061, 1962.

WILLIAMS, M. J. Pharmacology for regional anesthetic techniques. In: HAHN, M.B., McQUILLAN, P. M. , SHEPLOCK, G. I. (eds.). **Regional Anesthesia: An atlas of anatomy and techniques**. St. Louis, Mo: Mosby-Year Book, Inc; 1996, p.3-17