

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**MELOXICAM LIVRE E MELOXICAM NANOENCAPSULADO COMO
ADJUVANTES NA ANALGESIA TRANS E PÓS-OPERATÓRIA EM
CADELAS SUBMETIDAS À OVARIOHISTERECTOMIA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

GABRIELA LUGOCH

URUGUAIANA

2020

GABRIELA LUGOCH

**MELOXICAM LIVRE E MELOXICAM NANOENCAPSULADO COMO
ADJUVANTES NA ANALGESIA TRANS E PÓS-OPERATÓRIA EM
CADELAS SUBMETIDAS À OVARIOHISTERECTOMIA**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação *Stricto sensu* em Ciência Animal da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Diego Vilibaldo Beckmann

Co-orientadora: Marília Teresa de Oliveira

**Uruguaiiana
2020**

GABRIELA LUGOCH

**MELOXICAM LIVRE E MELOXICAM NANOENCAPSULADO COMO
ADJUVANTES NA ANALGESIA TRANS E PÓS-OPERATÓRIA EM
CADELAS SUBMETIDAS À OVARIOHISTERECTOMIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação Stricto Sensu em Ciência Animal da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciência Animal.

Área de concentração: Sanidade Animal

Dissertação defendida e aprovada em 09 de março de 2020.

Banca examinadora:



Prof. Dr. Diego Vilivaldo Beckmann
Orientador

Programa de Pós Graduação em Ciência Animal – UNIPAMPA



Prof. Dr^a Sandra Elisa Haas
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas – UNIPAMPA



Dr. Rafael Oliveira Chaves
Membro externo

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais, Roque e Rosangela, por todo amor, suporte e compreensão. Agradeço por serem minha base sempre e me proporcionarem tudo que esteve ao alcance de vocês. Sem vocês nada disso seria possível. Amo vocês!

Agradeço ao meu noivo Igor por todo amor, parceria e compreensão nos momentos difíceis. Obrigada por sempre estar ao meu lado e me apoiar nas minhas decisões. Saibas que és minha inspiração e meu porto seguro. Te amo!

Agradeço à minha família, meus sogros, tios, primos e avós, por sempre se fazerem presente de alguma forma e por todo incentivo.

Ao meu orientador, Diego, pela confiança, por todos os ensinamentos e por nunca medir esforços para me ajudar a crescer. Agradeço pela tua amizade e paciência. Saibas que fará muita falta no meu dia-a-dia. És um exemplo de profissional para mim, obrigada por tudo.

À minha co-orientadora, Marília, por toda amizade, pelos ensinamentos e principalmente por sempre estar presente quando precisei. Te admiro muito como profissional. Obrigada pela confiança.

Aos demais professores que estiveram presentes nesta etapa, pela amizade e pelos ensinamentos.

Aos amigos e colegas que me acompanharam diariamente nesta fase. Ana, Ângela, Endreo, Etiele, Geórgia, Giovana e Sandy obrigada por tornarem a rotina do dia-a-dia mais alegre e leve. Vocês são especiais e vão deixar saudades! Aos demais colegas do mestrado por toda parceria.

Aos meus estagiários queridos, Jorge, Giovanna, Danilo, Helloíne, Dieine, Dimas e Danielly, meus companheiros durante todo o projeto. Obrigada por toda amizade construída e por toda disponibilidade, por todas as madrugadas e noites trabalhadas, pelo auxílio nas cirurgias e consultas, vocês fizeram parecer mais leve. Obrigada pelo empenho e ajuda de vocês para que este trabalho fosse concluído!

Aos alunos de técnica cirúrgica por toda confiança e parceria nesses dois anos.

À toda equipe do HUVet, por serem profissionais exemplares e me darem suporte quando preciso.

A equipe do laboratório de Nanobiotecnologia da Unipampa, pelo auxílio e dedicação com este trabalho.

À FAPERGS pelo financiamento deste experimento.

À CAPES, pela bolsa de estudo, fundamental durante este período de mestrado.

À banca examinadora, Dra. Sandra e Haas e Dr. Rafael Chaves, obrigada pela disponibilidade.

Por fim, mas não menos importante, gostaria de agradecer aos animais, em especial, aos meus “filhos de quatro patas”. Por alegrarem meus dias e me fazer buscar sempre mais. Por serem fonte de inspiração e o principal motivo de ter iniciado essa caminhada!

RESUMO

O meloxicam é um potente fármaco anti-inflamatório utilizado no tratamento de dor musculoesquelética, inflamação e no manejo pré e pós-operatório. Apresenta alta permeabilidade intestinal e baixa solubilidade aquosa, sendo a dissolução seu fator limitante para absorção. Os efeitos colaterais mais frequentes incluem problemas gastrointestinais. Os nanocarreadores têm capacidade de aumentar a biodisponibilidade de fármacos, conseqüentemente diminuindo a dose necessária e efeitos adversos. O presente trabalho tem como objetivo avaliar meloxicam livre e meloxicam nanoencapsulado como adjuvantes na analgesia trans e pós-operatória em cadelas submetidas à ovariectomia (OH). Vinte cadelas adultas híginas foram distribuídas de forma aleatória no grupo ML (meloxicam livre) e no grupo MNano (nanocápsulas de meloxicam). Os dois grupos receberam as formulações na dose de 0,2 mg kg⁻¹, via oral, quatro horas antes da cirurgia. Foi realizado o procedimento cirúrgico de OH e avaliação da analgesia durante todo o transoperatório. A avaliação da dor pós-operatória foi realizada nas 48 horas após o procedimento. Na avaliação por meio da Escala de Glasgow Modificada, foi preconizada analgesia suplementar com metadona (0,3mg kg⁻¹) para valores iguais ou superiores a 6/24. Para avaliação empregando Escala Visual Analógica foi utilizada uma ficha de papel retilínea com 100 mm de comprimento, sendo 30mm o nível de intervenção analgésica recomendado. Foi mensurada a função plaquetária através do tempo de sangramento após punção da mucosa labial antes da administração do meloxicam, quatro horas após, ao final do procedimento cirúrgico e 12 horas depois de ingerido o medicamento. Além disso, foi avaliada creatinina uma semana antes da cirurgia, 24 e 48 horas após administração do meloxicam. As formulações não excluíram utilização de analgesia suplementar no período transoperatório e não houve diferença significativa entre os grupos quanto à quantidade de resgatados (p>0,05). Os animais não necessitaram de resgate analgésico no período após a cirurgia e não houve diferenças na avaliação das escalas de dor entre os grupos nas 48 horas pós-operatório (p>0,05), bem como não houve alterações do tempo de sangramento e nos valores da creatinina. No grupo ML, dois animais apresentaram vômito e um apresentou aquesia seguida de fezes com estrias de sangue, no período pós-operatório. A nova formulação de meloxicam nanoencapsulado promoveu analgesia pós-operatória satisfatória em cadelas saudáveis submetidos à OH, demonstrando qualidade analgésica semelhante ao meloxicam livre, quando administrada via oral, em dose única, 4 horas antes do procedimento cirúrgico. Não houve diferença entre os grupos na analgesia transoperatória e apenas animais tratados com meloxicam livre apresentaram efeitos colaterais

relacionados ao trato gastrointestinal no pós-operatório. Dessa forma, temos uma formulação nanoestruturada segura e eficaz como formulação alternativa aos produtos comerciais.

Palavras-chave: Nocicepção, dor, AINE, nanotecnologia.

ABSTRACT

Meloxicam is a potent anti-inflammatory drug used in treatment of musculoskeletal pain, inflammation and pre and postoperative management. This drug has high intestinal permeability and low aqueous solubility, with dissolution being its limiting factor for absorption. Common side effects include gastrointestinal problems. Nanocarriers have the ability to increase the bioavailability of drugs, decreasing the necessary dose and adverse effects. The present study aims to compare free meloxicam and nanoencapsulated meloxicam as adjuvants in trans and postoperative analgesia in bitches submitted to ovariohysterectomy. Twenty healthy adult female dogs were randomly distributed in the “ML” group (free meloxicam) and in the “MNano” group (nanoencapsulated meloxicam). The dose treatment was 0.2 mg kg^{-1} , via oral, four hours before the surgical procedure. The trans operative analgesia was performed during the surgical procedure. The postoperative pain assessment was performed during 48 hours after the procedure. The supplemental analgesia was recommended for values equal to or greater than 6/24 in the Modified Glasgow Scale and 30mm in the Visual Analogue Scale. Buccal mucosa bleeding time was measured before the administration of meloxicam, after 4 hours, in the end of surgical procedure and 12 hours after drug administration. In addition, creatinine was measured one week before surgery, 24 and 48 hours after meloxicam administration. The formulations did not exclude the use of supplementary analgesia in the trans operative period. There was no significant difference between the numbers of rescued in the two groups ($p > 0.05$). The animals did not require rescue analgesia after surgery and there were no clinically relevant differences in the assessment of pain scales between groups ($p > 0.05$). There were no changes in mucosa bleeding time and creatinine. Two animals presented vomiting and one animal presented aquesia followed by bloody stools in ML group in postoperative period. The nanoencapsulated meloxicam promoted satisfactory postoperative analgesia in a single dose, via oral, four hours before the surgical procedure in healthy dogs submitted to ovariohysterectomy. There was no difference between groups in the transoperative analgesia and only animals treated with free meloxicam had side effects related to the gastrointestinal tract in postoperative period. The nanostructured formulation is safe and effective and is an alternative formulation to commercial products.

Keywords: Nociception, pain, NSAID, nanotechnology.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: Assessment moments (M) of Sedation Scale, Glasgow Coma Scale (GCS) and Visual Analogue Scale (VAS) in hours after extubation.....	29
FIGURA 2: Heart rate (a) and mean arterial pressure (b) in dogs who received FM and MNano in the different anesthetic phases. (*) The MNano group had lower HR in phase 0 (p<0.05). (**/***/****) There was no difference between groups in each of the phases, however, there was a difference between the three anesthetic phases (p<0.05).	31

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Median and interquartile range of scores obtained using GCS and VAS in the evaluation of postoperative pain after OH in dogs who received free meloxicam (FM) or nanoencapsulated meloxicam (MNano).	32
TABELA 2: Média e desvio padrão da pressão arterial média (PAM – mmHg) e da frequência cardíaca (FC – bpm) mensuradas e divididas em fases durante anestesia para procedimento cirúrgico de OH em cadelas que receberam meloxicam livre (ML) ou meloxicam nanoencapsulado (MNano).....	43
TABELA 3: Dados de creatinina (mg/dL) realizados antes e depois do procedimento cirúrgico de OH em cadelas que receberam meloxicam livre (ML) ou meloxicam nanoencapsulado (MNano).	44
TABELA 4: Tempo de sangramento da mucosa labial (TS) em minutos de pacientes antes e depois do procedimento cirúrgico de OH em cadelas que receberam meloxicam livre (ML) ou meloxicam nanoencapsulado (MNano).....	46

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 Dor	14
2.2 Reconhecimento da dor em pequenos animais	14
2.3 Tratamento da dor.....	16
2.4 Meloxicam	18
2.5 Nanotecnologia	19
3 OBJETIVOS.....	21
3.1 Objetivo geral	21
3.2 Objetivos específicos	21
4 ARTIGO CIENTÍFICO.....	22
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
5.1 Dados dos parâmetros das pacientes durante anestesia	43
5.2 Creatinina.....	44
5.2 Tempo de sangramento da mucosa labial	45
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	47
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48

1 INTRODUÇÃO

O reconhecimento e o tratamento da dor são deveres morais e éticos dos Médicos Veterinários. A dor é um fator biológico que pode resultar em diferentes alterações no organismo do animal, tais como imunossupressão, retardo na cicatrização de feridas e aceleração de processos patológicos.

O estímulo doloroso induzido pelo procedimento cirúrgico desencadeia respostas fisiopatológicas que resultam em alterações cardiovasculares, metabólicas, neuroendócrinas e comportamentais. A instituição de terapia analgésica eficaz torna-se essencial, bem como o reconhecimento adequado dos sinais indicativos de dor. Entre as estratégias mais utilizadas para medir e reconhecer a dor, as mais desenvolvidas e pesquisadas ao longo dos últimos anos são as escalas de avaliação de dor.

Ao longo da história, a abordagem farmacológica para o tratamento da dor tem evoluído, incluindo a síntese de compostos químicos projetados para ativar ou deprimir ampla variedade de receptores ou canais iônicos responsáveis por produzir dor. No geral, os fármacos popularmente usados que tem apresentado eficácia no tratamento de quadros álgicos se enquadram na classe dos opioides, anti-inflamatórios não-esteroidais (AINES), agonistas $\alpha 2$ -adrenérgicos, anestésicos locais, inibidores dos receptores N-metil-D-aspartato (NMDA), antidepressivos e anticonvulsivantes.

O uso pré-operatório dos AINES está associado a uma menor inflamação da ferida cirúrgica, menor amplificação dos estímulos nociceptivos periféricos e centrais e menores escores de dor no período pós-operatório, quando comparado ao uso no período pós-operatório. O meloxicam é um potente fármaco anti-inflamatório, eficaz também como agente antipirético e analgésico. Tem alta permeabilidade intestinal e baixa solubilidade aquosa, sendo a dissolução seu fator limitante para absorção.

A busca por fármacos eficientes e com menos efeitos colaterais deve ser constante. São fundamentais maiores investigações científicas ao redor de um fármaco tão empregado na medicina veterinária, como o meloxicam. Nesse sentido, a utilização de novas tecnologias para formulação e otimização de medicamentos torna-se uma estratégia promissora. A nanotecnologia é utilizada para melhorar a dissolução e biodisponibilidade oral de fármacos pouco solúveis em água, além de protegê-los de degradação química, fotoquímica ou enzimática, podendo diminuir a sua toxicidade, melhorar a sua eficácia e distribuição cerebral. Formulações com nanocarreadores tendem a ser mais eficazes na entrega da molécula ao sítio

alvo, aumentando a biodisponibilidade do fármaco e conseqüentemente reduzindo a dose necessária e os efeitos adversos.

O procedimento cirúrgico diminui o volume de distribuição do meloxicam e pode aumentar a concentração plasmática, conseqüentemente aumentando os riscos de efeitos colaterais. Tendo em vista uma nova formulação de meloxicam eficaz e segura, torna-se de grande valia o emprego desse medicamento em pacientes que serão submetidos a procedimentos cirúrgicos. Deste modo, o presente trabalho traz como objetivo avaliar o meloxicam livre e o meloxicam nanoencapsulado como adjuvantes na analgesia trans e pós-operatória em cadelas submetidas à ovariohisterectomia.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Dor

Os empenhos para melhorar os conhecimentos, o reconhecimento e o tratamento da dor em animais são grandes na medicina veterinária. A dor foi conceituada pela Associação Internacional para o Estudo da Dor como “experiência sensorial e emocional desagradável associada a dano real ou potencial ao tecido, ou descrita em termos de tal dano” (MATHEWS, 2001; OTERO, 2005; FANTONI E MASTROCINQUE, 2009).

O estímulo nocivo ativa respostas neuroendócrinas responsáveis por alterações fisiológicas que podem causar graves consequências a órgãos e sistemas (GAYNOR & MUIR, 2008; FANTONI, 2012). A dor é uma resposta ao dano tecidual e inflamação. O manejo da dor crônica e da pré e pós-operatória é crucial para a recuperação e aceleração dos processos de cicatrização (BUSTI et al., 2005, TSAI et al., 2013).

O estímulo nociceptivo induzido pelo procedimento cirúrgico desencadeia respostas fisiopatológicas que resultam em alterações cardiovasculares, metabólicas, neuroendócrinas e comportamentais (OTERO, 2005). Essas alterações contribuem nas complicações pós-operatórias, no aumento nas taxas de morbidade e mortalidade, além de prolongar a recuperação do paciente (GAYNOR & MUIR, 2008). A dor promove o aumento nos níveis de cortisol, podendo prejudicar a cicatrização de feridas e diminuir a capacidade de ação do sistema imune (WEISSMANN, 1990).

A dor oriunda de um procedimento cirúrgico é considerada de caráter agudo e em geral é controlada com uso de analgésicos (HELLYER et al., 2007). Algumas cirurgias, como ovariectomia, apresentam componentes de dor somática e visceral (LERCHE & MUIR, 2012). A minimização da dor no período trans e pós-operatório são constantes preocupações dos cirurgiões. Por isso, avanços se desenvolveram em torno da criação de novas técnicas e procedimentos operatórios que buscam reduzir o trauma tecidual, os processos inflamatórios, os riscos cirúrgicos, a dor do paciente e as cicatrizes indesejáveis (OTERO, 2005).

2.2 Reconhecimento da dor em pequenos animais

A dor nos animais pode causar ações motoras protetoras, aversão condicionada e pode modificar traços de comportamento específicos para a espécie (MORTON et al., 2005). O limiar de dor dos animais é a intensidade mínima necessária para que o estímulo seja percebido como doloroso e a tolerância à dor é uma característica que pode variar entre os indivíduos de uma mesma espécie (TRANQUILLI et al., 2005). A dor aguda é resultante de lesão traumática, cirúrgica ou infecciosa e tem um curto período de duração (FANTONI E MASTROCINQUE, 2009; EPSTEIN et al., 2015). Além disso, tem caráter fisiológico, função de defesa e geralmente responde à medicação analgésica, desaparecendo com a cicatrização ou resolução da doença, tendendo a ser autolimitante (GAYNOR & MUIR, 2008).

Os principais sinais da dor aguda incluem aumento da pressão sanguínea e da frequência cardíaca e respiratória, vasoconstrição periférica e tensão muscular. Esses sinais frequentemente estão associados à intensidade de um estímulo nocivo (TRANQUILLI, 2005). As mudanças comportamentais como vocalização, agitação, agressão, diminuição do apetite, falta de interação e posturas anormais também podem indicar a presença de dor (HOLTON et al., 2001; YAZBEK, 2008). A avaliação do animal deve envolver observação e interação com o paciente e o avaliador deve ter conhecimento do comportamento normal do animal, os quais representam seus parâmetros basais (HELLYER et al., 2007).

Diversas estratégias são utilizadas para mensuração da dor em animais de forma adequada. As mais desenvolvidas e pesquisadas são as escalas de avaliação de dor (BUFALARI et al., 2007). As escalas utilizadas em animais foram baseadas em escalas observacionais desenvolvidas para seres humanos. No entanto, a pouca eficácia na avaliação de dor aguda em cães ou a limitação em medir apenas uma dimensão de dor, como a intensidade, revelaram ser inadequadas em medicina veterinária (HANSEN, 2003; HELLYER, 2005; SHAFFRAN, 2008). Como alternativa foram criadas escalas multidimensionais ou compostas, baseadas na expressão comportamental de determinada espécie perante a experiência de dor, levando em consideração características sensoriais e afetivas de dor (HANSEN, 2003; GAYNOR & MUIR, 2008).

A Escala Visual Analógica (EVA) é uma ferramenta de pontuação subjetiva utilizada para quantificar a intensidade da dor (GAYNOR & MUIR, 2008). Amplamente usada na medicina, é uma escala simples e unidirecional que consiste numa linha reta de 100 mm, com descrição dos limites em suas extremidades, à esquerda nenhuma dor e, à direita, a dor mais grave possível (GRINT et al., 2006; FLÔR, MARTINS e YASBEK, 2011). Os observadores fazem uma marca em um ponto ao longo da linha para interpretar o grau de dor e o escore é dado pela medição da distância entre o ponto nenhuma dor e o ponto indicado pelo avaliador

(GRINT et al., 2006). A EVA envolve grande margem de variação entre os observadores e não usa categorias definidas, não estando limitada à variação dentro de categorias restritas (GRINT et al., 2006; QUINN et al., 2007). Porém, frequentemente é considerada mais sensível do que a escala de avaliação numérica e a escala descritiva simples (GRINT et al., 2006).

A Escala de Dor de Medida Composta de Glasgow, é uma escala de avaliação multidimensional (HOLTON et al., 2001) desenvolvida para avaliação de animais em ambiente hospitalar, com base na observação comportamental (MURREL et al., 2008). A escala em forma de questionário estruturado é preenchida por um observador (HOLTON et al., 2001) e inclui sete categorias (atitude e resposta ao avaliador, postura, mobilidade, atividade, resposta à palpação, atenção à área dolorida e vocalização), totalizando 47 descrições (MURREL et al., 2008). A limitação por demandar um tempo considerável para sua aplicação gerou a criação de uma versão abreviada, com 30 descrições agrupadas em seis categorias comportamentais (MURREL et al., 2008; GAYNOR & MUIR, 2008). A vantagem dessa versão consiste na objetividade, limitando interpretações, reduzindo desta forma a influência subjetiva do avaliador (MURREL et al., 2008).

2.3 Tratamento da dor

O controle da dor de forma adequada promove o bem-estar geral do animal e também melhor recuperação pós-cirúrgica. A analgesia preemptiva refere-se à aplicação de técnicas analgésicas antes do paciente ser exposto a estímulos nocivos, como os procedimentos cirúrgicos. A analgesia preventiva não elimina a dor pós-operatória, mas pode ajudar a evitar a sensibilização dos sistemas nervosos periféricos e centrais durante o procedimento cirúrgico (DUGDALE, 2010; TRANQUILLI et al., 2005).

A analgesia correta pode ser obtida através de terapêutica multimodal, isto é, através da combinação de analgésicos de diferentes classes farmacológicas que atuam em diferentes locais e receptores impedindo, a diferentes níveis, a transmissão da dor (LAMONT & MATHEWS, 2008). Os fármacos popularmente usados no tratamento da dor se enquadram na classe dos opioides, anti-inflamatórios não-esteroidais (AINES), agonistas α 2-adrenérgicos, anestésicos locais, inibidores dos receptores N-metil-D-aspartato (NMDA), antidepressivos e anticonvulsivantes (GAYNOR & MUIR, 2008).

Na categoria dos AINES estão incluídas drogas que agem através da inibição da ciclooxigenase (COX) (BOTTING et al., 2006), bloqueando a conversão do ácido araquidônico em prostanóides, conhecidos como prostaglandinas, prostaciclina e tromboxanos, envolvidos no processo inflamatório e na sensibilização dolorosa central e periférica (LANDONI, 2005; BASSANEZI & OLIVEIRA FILHO, 2006). Os AINES constituem um grupo heterogêneo de compostos, que apesar de compartilharem do mesmo mecanismo de ação, têm fórmula estrutural e propriedades químicas diferentes, resultando em ação analgésica, anti-inflamatória e antipirética, podendo ser utilizados tanto na dor aguda como na crônica (BUDSBERD, 2008; TEIXEIRA, 2010). Eles bloqueiam a liberação de substâncias algogênicas e inflamatórias, agindo na fase de transdução do processo doloroso (LANDONI, 2005). O uso pré-operatório dos AINES está associado a menor inflamação da ferida cirúrgica, menor amplificação dos estímulos nociceptivos periféricos e centrais e menores escores de dor no período pós-operatório, quando comparado ao uso no período pós-operatório (LEMKE et al., 2002).

As isoformas da enzima COX possuem diferentes estruturas e funções, sendo conhecidas como COX-1 e COX-2. As COX-1 são consideradas constitutivas e agem na citoproteção da mucosa gástrica e manutenção da homeostase renal e plaquetária. A COX-2 está presente nos locais de inflamação sendo denominada enzima indutiva (HILÁRIO et al., 2006). De acordo com essas características surgiram os inibidores específicos da COX-2, os quais impediriam o processo inflamatório sem os efeitos colaterais indesejáveis (ANDRADE, 2008).

Os principais efeitos adversos dos AINES sobre o trato gastrointestinal são vômito, diarreia e anorexia, podendo ocorrer desde gastrite moderada até severas ulcerações, sangramento e, eventualmente, morte (PAPICH, 2008). Também podem ser observados comprometimentos renais, hepáticos e cardiovasculares (AZEVEDO, 2009). Dessa forma, os inibidores seletivos de COX-2 são potencialmente importantes em gatos e cães, pois essas espécies parecem ser mais susceptíveis que os humanos aos danos gastrointestinais dos AINES não seletivos, que inibem a COX-1 in vivo, na dose terapêutica (PIRES, 2009).

2.4 Meloxicam

O meloxicam é um potente fármaco anti-inflamatório, pertencente à classe do ácido enólico dos derivados do oxicam (DAVIES & SKJODT, 2006) e eficaz como agente antipirético e analgésico (KUM et al., 2013). Inibe preferencialmente a COX-2 (KAY-MUGFORD et al., 2000), que é induzida por estímulos inflamatórios em condições fisiopatológicas (ENGELHARDT et al., 1995). A farmacocinética varia de acordo com a espécie animal, podendo apresentar meia-vida de três a 36 horas (VAN BREE et al., 1994; TASAKA, 2017; BOOTHE, 2001). Em cães apresenta meia-vida de 22 a 24 horas (TÜRCK et al., 1997), o que permite sua administração em dose única diária (VAN BREE et al., 1994; TASAKA, 2017; BOOTHE, 2001). Tem alta permeabilidade intestinal e baixa solubilidade aquosa (DEL TACCA et al., 2002; HANFT et al., 2001).

O meloxicam é utilizado em tratamento de dor musculoesquelética, inflamação e no manejo pré e pós-operatório (KUM et al., 2013; TASAKA, 2017). Tem sido amplamente utilizado em estados de dor crônica, como osteoartrite e é um medicamento seguro e eficaz para controlar a dor aguda pós-operatória em cães submetidos à laparotomia (MATHEWS et al., 2001; CAULKETT et al., 2003; LEECE et al., 2005; TSAI et al., 2013).

Os efeitos colaterais mais frequentes incluem problemas gastrintestinais, como gastrite, náuseas, vômitos e diarreia (LAMONT & MATHEWS, 2008). Entretanto, o meloxicam tem se mostrado mais seguro em relação aos efeitos adversos e com pouca ação sobre as prostaglandinas e COX-1, quando comparado aos anti-inflamatórios mais antigos (COSTA et al., 2007).

Estudos anteriores demonstram a utilização do meloxicam de forma preemptiva no controle da dor pós-operatória. Leece et al. (2005) evidenciaram eficácia analgésica do meloxicam administrado no momento da medicação pré-anestésica para procedimento cirúrgico de OH, pela via subcutânea na dose de $0,2\text{mg kg}^{-1}$, seguido de uma administração diária por via oral ($0,1\text{mg kg}^{-1}$) durante 72 horas. Tsai et al. (2013) também demonstraram efeito analgésico do fármaco na OH, utilizado na dose de $0,2\text{mg kg}^{-1}$ por via intravenosa (IV), 5 minutos antes da cirurgia. Da mesma forma, o meloxicam conferiu analgesia a cirurgias abdominais na dose de $0,2\text{mg kg}^{-1}$ IV após indução anestésica (MATHEWS et al., 2001).

No entanto, Bendinelli e colaboradores (2019) demonstraram que o meloxicam administrado por via subcutânea, na dose de $0,2\text{ mg kg}^{-1}$, antes da indução da anestesia, promove controle da dor por 24 horas após ovariectomia laparoscópica e gastropexia assistida

por laparoscopia em cadelas, mas foi necessária analgesia de resgate em alguns animais. Da mesma forma que caninos e felinos pré-medicados com meloxicam ($0,1\text{mg kg}^{-1}$, via oral) duas horas antes da cirurgia necessitaram resgate analgésico na fase pós-operatória de OH e orquiectomia eletivas (Quarterone et al. 2017).

2.5 Nanotecnologia

A nanotecnologia é conhecida como a utilização de nanomateriais com dimensões entre 1-1000 nm (SOPPIMATH et al, 2001). É uma tecnologia pertencente a uma ciência multidisciplinar com várias aplicabilidades e sua utilização como dispositivos de entrega de medicamentos é um mercado em expansão (MELO & PIMENTA, 2010).

Nanocarreadores são formulações de nanomateriais utilizadas pela indústria farmacêutica (SOPPIMATH et al, 2001; SONDI & SALOPEK-SONDI, 2004; MISHRA et al., 2010) que podem ser definidos como partículas farmacologicamente ativas com capacidade de carrear fármacos (SOPPIMATH et al, 2001; CABAN et al., 2014). Formulações com nanocarreadores tendem a ser mais eficazes na entrega da molécula ao sítio alvo, aumentando a biodisponibilidade do fármaco e conseqüentemente diminuindo a dose necessária e reduzindo os efeitos adversos (SOPPIMATH et al, 2001; MISHRA et al., 2010).

As formulações de nanocarreadores são nanocápsulas, nanoesferas e nanoemulsões, sendo as nanocápsulas sistemas vesiculares onde o fármaco está em uma cavidade envolta por um invólucro polimérico (SOPPIMATH et al, 2001; ANTON et al., 2008). As nanocápsulas de núcleo lipídico são um subtipo de nanocápsulas demonstradas para agir como droga de transporte através da barreira hemato-encefálica (CARRENO et al., 2016) e têm ganhado uma atenção superior pelo seu potencial para transportar drogas para o sistema nervoso central.

Estudos comprovaram eficácia de nanoformulações contendo meloxicam avaliadas em modelos experimentais, entretanto não foram encontrados estudos em cães. Estudos *in vivo* em ratos demonstraram que a nanoencapsulação não conferiu toxicidade adicional ao meloxicam co-encapsulado, tornando-o um sistema de entrega de medicamentos altamente promissor (NAKAMA et al., 2018). Nanocápsulas contendo meloxicam apresentaram efeito anti-inflamatório superior ao ativo livre em um modelo de pleurisia induzido pela carragenina em camundongos (IANISKI, 2016). O tratamento com nanocápsulas contendo meloxicam apresentou efeito benéfico sobre o déficit cognitivo em um modelo da Doença de Alzheimer

em camundongos, enquanto que o fármaco na forma livre não teve esse efeito (IANISKI, 2011). A eficácia da entrega de meloxicam por via transdermal em ratos também foi observada através do desenvolvimento de um gel de nanopartículas lipídicas sólidas, demonstrando adequada penetração do fármaco, além de uma liberação controlada e sustentada (KHURANA et al., 2015).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a eficácia do meloxicam nanoencapsulado e do meloxicam livre como adjuvantes na analgesia trans e pós-operatória em cadelas submetidas à ovariectomia.

3.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos do estudo consistem em:

- Comparar a eficácia analgésica do meloxicam nanoencapsulado e do meloxicam livre em cadelas submetidas à OH.
- Verificar a ocorrência de possíveis efeitos colaterais causados pelas formulações no pós-operatório imediato.
- Quantificar a necessidade de analgesia suplementar em ambos os grupos no transoperatório.
- Quantificar a necessidade de resgate analgésico no pós-operatório em ambos os grupos.

4 ARTIGO CIENTÍFICO

Os resultados desta dissertação estão apresentados sob a forma de artigo científico. As seções Introdução, Métodos, Resultados, Discussão, Conclusão e Referências Bibliográficas encontram-se no manuscrito a seguir. O manuscrito está formatado de acordo com as normas da *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, revista a qual será submetido o trabalho.

Meloxicam livre e meloxicam nanoencapsulado como adjuvantes na analgesia trans e pós-operatória em cadelas submetidas à ovariectomia

Free meloxicam and nanoencapsulated meloxicam as adjuvant in intraoperative and postoperative analgesia in bitches submitted to ovariectomy

Gabriela Lugocho, Jorge Abrão Pinto Vilela, Giovanna Bauer, Helloíne Mariane Ribeiro Antunes, Flávia Elizabete Guerra Teixeira, Sandra Elisa Haas, Diego Vilivaldo Beckmann, Marília Teresa de Oliveira

ABSTRACT

Objective: To evaluate the analgesia provided by free meloxicam and nanoencapsulated meloxicam in intraoperative and postoperative periods in female dogs submitted to ovariectomy (OH).

Study design: Prospective, randomized, double-blind, controlled, and clinical study.

Animals: Twenty healthy, intact female dogs, aged 21.20 ± 15.96 months, weighing 13.60 ± 1.74 kg.

Methods: The animals were randomly distributed into the FM group, who received oral free meloxicam (0.2 mg kg^{-1}) and into the MNano group, who received meloxicam nanocapsules in the same dose and route of administration. Both groups received the formulations four hours before the surgical procedure. OH was performed and transoperative analgesia was evaluated based on elevated heart rate and average arterial pressure. Subsequently, a pain assessment was conducted in the first 48 hours after surgery. In the pain assessment, supplemental analgesia with methadone (0.3 mg kg^{-1}) was recommended for values equal to or greater than 6 using the Glasgow Coma Scale (GCS) and 30mm on the Visual Analog Scale (VAS). Platelet function was measured through a buccal mucosal bleeding time test before meloxicam administration, 4 hours after that administration, at the end of the

ovariohysterectomy, and 12 hours after taking the medication. In addition, creatinine was measured one week before surgery as well as 24 and 48 hours after meloxicam administration.

Results: The distribution of rescue analgesia in the transoperative period showed no difference between groups. No patient required supplemental analgesia in the postoperative period. There was no difference in postoperative pain assessment scales, buccal mucosal bleeding time, or creatinine between the two groups. However, two dogs of FM group presented vomiting and one presented constipation followed by blood in stool.

Conclusion and Clinical Relevance: Free meloxicam and the new formulation of nanoencapsulated meloxicam promoted satisfactory postoperative analgesia in healthy dogs submitted to OH when administered orally, in a single dose, four hours before the surgical procedure. There was no difference between the groups in transoperative analgesia. Only animals treated with free meloxicam had side effects related to the gastrointestinal tract in the postoperative period, indicating that the nanostructured formulation is safe and effective as an alternative to commercial products.

Keywords: Meloxicam, nanotechnology, analgesia, dogs.

Introduction

The efforts to improve pain recognition and treatment are great in veterinary medicine since professionals are responsible for the health and welfare of animals (Fantoni 2012; Aleixo et al. 2016). Pain is a biological factor in response to tissue damage and inflammation, which can result in different changes in the animal's body, such as immunosuppression, delayed wound healing and acceleration of pathological processes (Fantoni & Mastrocinque 2009).

The nociceptive stimulus induced by the surgical procedure triggers pathophysiological responses that result in cardiovascular, metabolic, neuroendocrine and behavioral changes (Paul-Murphy 2007). Adequate pain control promotes the animal's general well-being and better postoperative recovery. Preemptive analgesia refers to the application of analgesic techniques before the patient is exposed to harmful stimuli, such as surgical procedures. This technique does not eliminate postoperative pain but can help prevent sensitization of the peripheral and central nervous systems during the surgical procedure (Tranquilli et al. 2005).

Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) have antipyretic, anti-inflammatory and analgesic properties (Botting et al. 2006). They are used in veterinary medicine especially to treat musculoskeletal and abdominal pain (Karademir et al. 2016). In the management of chronic pain, NSAIDs are the drugs used most for the treatment of mild to moderate pain (Andrade 2008). The preoperative use of NSAIDs is associated with less inflammation of the surgical wound, less amplification of peripheral and central nociceptive stimuli and lower pain scores in the postoperative period, when compared to postoperative use (Lemke et al. 2002).

Meloxicam, a potent anti-inflammatory drug (Kum et al. 2013), presents high intestinal permeability and low aqueous solubility. Dissolution is its limiting factor for absorption (Del Tacca et al. 2002). The main limitations associated with the use of oral NSAIDs are the gastrointestinal side effects, which result from the inhibition of the isoenzyme COX-1 (Khan & Mclean 2012). The preferential inhibitory activity of the COX-2 enzyme in meloxicam minimizes its side effects, usually characterized by vomiting and diarrhea (Tasaka, 2017).

The search for efficient drugs with minimal adverse effects such as vomiting and diarrhea must be constant, especially for medications such as meloxicam that are used frequently in veterinary medicine. Several strategies have been used to prevent gastric damage

induced by NSAIDs and one of the proposed alternatives is the use of carriers so the asset can reach the site of action and be selectively released at the target site (Shahiwala et al. 2002). Therefore, the use of new technologies for drug formulation becomes a promising strategy.

Nanotechnology improves the dissolution and oral bioavailability of drugs that are poorly soluble in water, in addition to protecting them from chemical, photochemical or enzymatic degradation and thereby reducing their toxicity, improving their effectiveness and brain distribution (Vieira et al. 2016). Formulations with nanocarriers tend to be more effective in delivering the molecule to the target site, increasing the bioavailability of the drug and consequently decreasing the required dose and its adverse effects (Mishra et al. 2010).

Nanoencapsulated meloxicam is evaluated in several experimental disease models in rats and mice (Ianiski 2011, Ianiski 2016, Nakama et al. 2018), but there are no studies of this formulation in dogs in the researched databases. Thus, the present study aims to evaluate the analgesia provided by free meloxicam and nanoencapsulated meloxicam in trans- and post-operative periods in female dogs submitted to OH.

Materials and Methods

Committee on Animal Research and Ethics

The experiment was carried out after the approval of the Ethics Committee on the Use of Animals in Research of the Federal University of Pampa (UNIPAMPA), according to protocol n° 037/2017.

Animals

Owners who were interested in having their dogs spayed at a low cost provided the animals for the study after receiving an explanation of the procedure and signing a written authorization. Twenty healthy female dogs aged 21.20 ± 15.96 months, weighing 13.60 ± 1.74 kg were selected. Of the 20 animals included in the study, 18 (90%) were mixed breed, 1 (5%) was a beagle and 1 (5%) was a border collie. The animals were submitted to clinical and laboratory evaluation one week before the surgical procedure, including complete blood count and serum biochemical analyses of creatinine and alanine aminotransferase. During the week of the study, the dogs were hospitalized, underwent a 24 hour adaptation period to the experimental environment, and had contact with the observer before the surgical procedure

was performed. During this period, vaginal cytology was performed to confirm anestrus and inclusion in the study.

Medication administration and formulation

The animals were randomly divided into two groups. The FM group received free meloxicam (0.2 mg kg⁻¹, orally), while the MNano group received meloxicam nanocapsules (0.2 mg kg⁻¹, orally, four hours before the surgical procedure. Then, OHs were performed, intraoperative analgesia was evaluated, and, soon after, postoperative pain was assessed.

Free meloxicam solution (0.5 mg mL⁻¹) was composed of meloxicam, low molecular weight polyethylene glycol (PEG 400) and MILLI-Q water. The preparation consisted of solubilizing meloxicam in PEG 400 under magnetic stirring and heating in a water bath at 37°C. As soon as it was solubilized, the previously heated water began to drip and was subsequently stirred for another 10 minutes. If necessary, the solution was taken to ultrasonic bath for another 10 minutes to complete the solubilization.

The preparation of the nanocapsules (NC) was carried out by the nanoprecipitation method and standardized. The organic phase, consisted of meloxicam, surfactant (span 60), polymer (poly-and-prolactone), oil (medium chain triglycerides-mct), co-solvent (ethanol), and solvent (acetone) heated in a water bath (37 to 40 °C) until the constituents were completely dissolved. Afterwards, it was slowly poured under moderate stirring at room temperature through a narrow funnel under an aqueous solution of polysorbate 80 (hydrophilic surfactant). After the immediate formation of NC, the solution was kept under moderate stirring for 10 minutes. Then, the suspension was placed inside an evaporator flask and concentrated on a rotary evaporator to eliminate the organic solvent and final adjustment of the drug concentrations (1 mg mL⁻¹).

Perianesthetic period

To perform the surgery, an eight-hour preoperative fast was instituted. Patients received acepromazine (0.03 mg kg⁻¹, intramuscular) and morphine (0.3 mg kg⁻¹, intramuscular) as preanesthetic medication. After 15 minutes, clipping and skin preparation were performed followed by transportation to the surgery room. Anesthetic induction was performed after 30 minutes of preanesthetic medication, through propofol administration (4 mg kg⁻¹, intravenously) or sufficient dose to allow orotracheal intubation) and maintenance

was performed with isoflurane on oxygen 100%, in adequate concentration to keep the animals in moderate anesthetic plan (V% 1.5 – 2), compatible with ventral rotation of the eyeball, absence of swallowing reflexes, absence of eyelid reflexes, and loss of mandibular tone.

The respiratory rate was adjusted during anesthesia so the partial pressure of CO₂ at the end of expiration (ETCO₂) remained between 35 and 45 mmHg. Monitoring was performed throughout the transanesthetic period and data were recorded every five minutes. During anesthesia, mean arterial pressure (MAP) in mmHg (obtained by the invasive method), heart rate (HR) in beats per minute (bpm), oxygen saturation in circulating hemoglobins (%) and central temperature (oC) were also measured. In a situation of severe hypotension (MAP < 60mmHg) an intravenous dopamine infusion (5 µg.kg⁻¹.min⁻¹) was established until normotension was established.

The stages of monitoring HR and MAP were divided into phases. Phase 0 contemplated the period between anesthetic induction and a brief moment before the skin incision. Phase 1 covered from the skin incision to the brief moment prior to celiorraphy. Finally, phase 2 represented celiorraphy. The surgery was started after the establishment of a moderate anesthetic plan, with HR and MAP values at that time being computed as baseline. In patients who reached a value greater than 20% of the parameters considered baseline for more than 1 minute, supplemental analgesia (Bustamante et al. 2018) with 2.5µg.kg⁻¹ of fentanyl was performed.

The same surgeon operated on all of the patients, which performed the OH by modified three-clamp technique (Fossum 2014), based on retro-umbilical celiotomy covering the cranial third of the distance between the umbilical cord scar and the cranial border of the pubis. During the surgical period, all patients received antibiotic prophylaxis (cephalothin, 30 mg kg⁻¹, intravenously), in a single dose. After the interruption of the supply of isoflurane and extubation, the dogs were sent for recovery in a room destined for the study, without external stimuli.

Postoperative pain assessment

The evaluation of postoperative analgesia was performed by an experienced observer in pain assessment, who was not aware of the analgesic protocol used. In parallel, the evaluator used a sedation scale in the first four postoperative hours, whose numerical score ranged from 0 (without sedation) to 3 (intense sedation) (Lambertini et al. 2018). The

Glasgow Coma Scale (GCS) and the Visual Analogue Scale (VAS) were used for postoperative pain assessment, starting at 60 minutes after extubation, at one-hour intervals, in the first four hours (M1 to M4), at 6 h (M6), at 8 h (M8), at 12 h (M12), at 24 h (M24), and 48 h (M48) post-extubation (Fig. 1). The assessment of patients prior to the anesthetic procedure was adopted as baseline (MBasal).

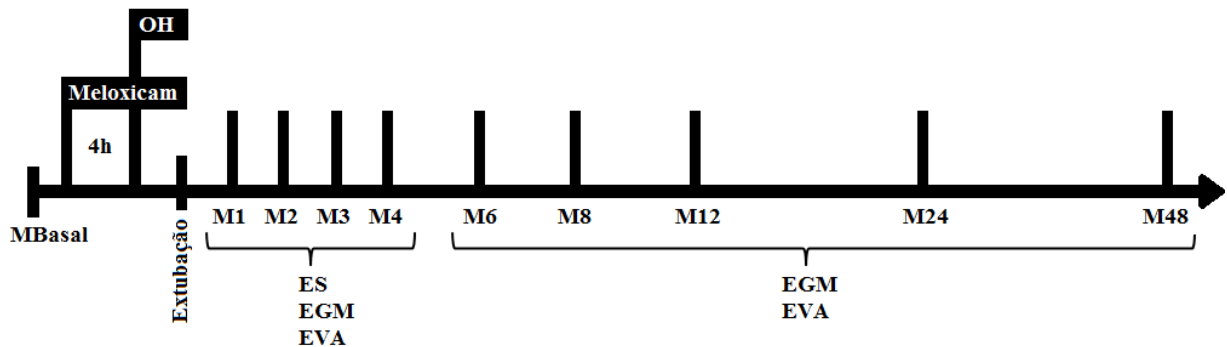


Figure 1 Assessment moments (M) of Sedation Scale, Glasgow Coma Scale (GCS) and Visual Analogue Scale (VAS) in hours after extubation.

The evaluation of postoperative pain by GCS was performed according to the usage guidelines by Murrel et al. (2008). The evaluation of postoperative pain by VAS was performed with the help of a rectilinear paper sheet with 100 mm in length, with the left end considered as absence of pain (0 mm) and the right as the worst possible pain (100 mm). The observer made a mark at a point along the line to interpret the degree of pain and the score was given by measuring the distance between the point of no pain and the point indicated by the evaluator. If the patient reached a value equal to or greater than 6 points on the GCS or 30 mm on the VAS, methadone (0.3 mg kg^{-1} , intramuscular) as rescue analgesic and reassessment in half an hour after administration was recommended. All animals were hospitalized and were under monitoring during the first 72 hours after surgery, to evaluate the surgical wound and check for possible side effects, such as vomiting, diarrhea and lack of appetite. Subsequently, they were discharged from the animal hospital.

Other measurements

Platelet function was evaluated by buccal mucosal bleeding time before meloxicam administration (PBasal), four hours after (P4), at the end of the surgical procedure (Pfinal), and 12 hours (P12) after taking the medication. In addition, 0.5 mL of blood was collected

from the jugular vein to measure creatinine one week before surgery (CBasal), 24 (C24) and 48 (C48) hours after meloxicam administration.

Statistical analysis

Statistical tests were performed with the SPSS Software. The Shapiro-Wilk test was used for testing the normality of data. The variables that presented normal distribution were evaluated by the ANOVA test of variance and later were compared by the t test. For variables that did not show normal distribution, analysis of variance was performed using the Kruskal-Wallis non-parametric test. For evaluation between pain and sedation scale variables, the Spearman's correlation test was performed. Fisher's exact test was used to compare the need for supplemental analgesia in the intraoperative period between groups. The significance level adopted for all tests was 5%.

Results

All animals showed anesthetic recovery without excitement. Anesthesia duration varied from 82 to 119 minutes in the FM group and from 87 to 131 minutes in the MNano group. The surgical procedure time varied from 40 to 70 minutes in the FM group and from 44 to 76 minutes in the MNano group, without complications.

The evaluation of the phases of the transanesthetic period revealed a difference in the HR values (Fig. 2a) between phase 0 of the MNano group and phases 1 and 2 ($p < 0,05$). MAP (Fig. 2b) showed no difference between groups in each phase ($p > 0,05$), however, there was a difference when the phases of each group were compared ($p < 0,05$).

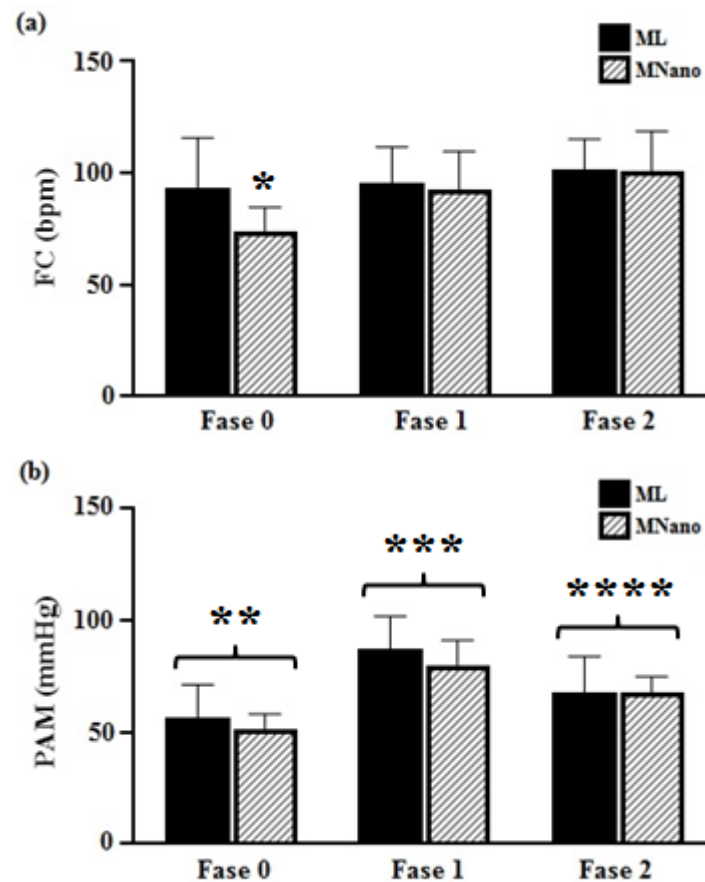


Figure 2 Heart rate (a) and mean arterial pressure (b) in dogs who received FM and MNano in the different anesthetic phases. (*) The MNano group had lower HR in phase 0 ($p < 0.05$). (**/****/*****) There was no difference between groups in each of the phases, however, there was a difference between the three anesthetic phases ($p < 0.05$).

During the surgery, eight animals, three from the FM group (3/10) and five from the MNano group (5/10), received supplemental analgesia with fentanyl. The distribution of the need for supplemental analgesia showed no difference between the groups ($p = 0.650$). The three animals in the FM group received three, two, and one administrations of fentanyl during surgery, respectively. Of the five animals in the MNano group, three received two administrations, the fourth animal received one administration, and, finally, the fifth received six administrations of fentanyl.

The median of the sedation score in the FM group at M1 consisted of 1 and the MNano group 1.5. At M2, M3 and M4 the median obtained was 0 for both groups. The values

of the sedation scale showed a strong correlation ($\rho=0.71$) with the GCS values of the patients. However, VAS showed a weak correlation ($\rho=0.38$) with the sedation scale.

In the evaluation of postoperative pain, no animal reached the score for rescue analgesia. The scores obtained using the GCS and VAS scales showed no difference between the FM and MNano groups ($p>0.05$). Nonetheless, there was a difference between the moments of evaluation ($p<0.05$), as represented in Table 1.

Table 1 Median and interquartile range of scores obtained using GCS and VAS in the evaluation of postoperative pain after OH in dogs who received free meloxicam (FM) or nanoencapsulated meloxicam (MNano).

	GCS			VAS		
	FM	MNano	Pvalue	FM	MNano	Pvalue
MBasal	0b(0-0)	0b(0-0)	1.000	0b(0-0)	0b(0-0)	1.000
M1	3a(2-5)	3a(2-5)	0.844	0.3a(0.2-0.4)	0.3a(0.1-0.6)	0.654
M2	2a(1-3)	3a(1-5)	0.615	0.2a(0.1-0.5)	0.2a(0.1-0.3)	0.950
M3	0.5ab(0-2)	2a(0-4)	0.048	0.2a(0.1-0.2)	0.2a(0.1-0.3)	0.479
M4	0b(0-1)	1ab(0-2)	0.240	0.15a(0.1-0.3)	0.1ab(0.1-0.2)	0.723
M6	0b(0-0)	0b(0-1)	0.285	0.1ab(0-0.2)	0.1ab(0.1-0.1)	0.674
M8	0b(0-0)	0b(0-1)	0.722	0.1ab(0-0.2)	0.1ab(0-0.2)	0.818
M12	0b(0-0)	0b(0-0)	1.000	0.1ab(0-0.2)	0.1ab(0-0.2)	0.818
M24	0b(0-0)	0b(0-0)	1.000	0b(0-0.1)	0b(0-0.1)	0.786
M48	0b(0-0)	0b(0-0)	1.000	0b(0-0.1)	0b(0-0.1)	0.786
Pvalue	<0.05	<0.05		<0.05	<0.05	

Medians followed by equal letters in the same column do not differ from each other by the Kruskal-Wallis test at the level of 5% significance.

Bleeding time averages (seconds) in the FM group were 47.70 ± 17.85 in the PBasal, 57.20 ± 16.98 in P4, 66.80 ± 17.81 in Pfinal, and 47.80 ± 13.94 in P12. In the MNano group, 41.60 ± 13.31 in P0, 49.10 ± 22.59 in P4, 70.70 ± 43.63 in Pfinal, and 46.20 ± 20.10 in P12. Preoperative administration of the drugs did not induce significant changes in buccal mucosal bleeding time ($p=0.08$).

The creatinine averages (mg/dL) in the FM group were 0.79 ± 0.28 in CBasal, 0.84 ± 0.16 in C24, and 0.84 ± 0.11 in C48. In the MNano group, 0.99 ± 0.15 in CBasal, 0.86 ± 0.13 in C24, and 0.88 ± 0.13 in C48. The creatinine evaluation did not show any

difference between the groups and no animal obtained a value that exceeded the reference for the canine species ($p=0.157$).

During the postoperative evaluation, only 3/20 animals presented gastrointestinal side effects, all of them in the FM group. Two patients had an episode of isolated vomiting in the postoperative period, one at 14 and the other at 36 hours after administration of meloxicam. One animal defecated for the first time 36 hours after taking the drug and streaks of blood covering the stool were observed. Fecal exam was negative and the ultrasound examination showed stomach and colon irritation. A wet food diet was instituted and the feces returned to normal 36 hours after the diet change.

No edema or redness was observed at the incision site after surgery. There was no seroma formation or wound dehiscence. All animals showed good healing, allowing stitches removal 10 days after surgery.

Discussion

Intraoperative analgesia is extremely important since general anesthesia does not inhibit the neuronal processes of the peripheral and central nervous system that are responsive to pain (Duarte & Saraiva 2005). In the study, eight patients received supplemental analgesia during surgery, based on the monitoring of HR and MAP, however, the need for rescue analgesia did not differ between groups, demonstrating similarity in the quality of transoperative analgesia between the formulations. Preemptive administration of morphine, a potent opioid analgesic (Grider & Ackerman 2008) and meloxicam as an adjuvant, did not exempt the need for supplementary analgesia in the intraoperative of all patients, which reinforces the importance of constant and careful monitoring of each individual.

The division of the monitoring phases was adequate according to a study of Höglund et al. (2011), in order to allow the identification of changes during different stages of the procedure. Although HR differed only in the MNano group in phase 0, the lowest values were observed at that time, corresponding to the period between induction of anesthesia and the establishment of a moderate anesthetic plan. Anesthesia can influence heart rate variability (Ledowski et al. 2005), since the reduction in cardiovascular parameters is considered an expected effect due to central depression caused by anesthetics (Haskins 2015). However, the mean values remained within the typical physiological values for the species (Haskins 2015).

The lowest MAP values were computed in phase 0, showing a difference between the phases of each group. However, there was no difference between FM and MNano groups.

When considering the physiological values for canine species, approximately 80-120 mmHg (Haskins 2015), hypotension was noticed in both groups. According to Redondo et al. (2007), this condition is one of the most frequent hemodynamic complications in transanesthetics. The transient hypotension observed in most animals in this study in phase 0, right after induction, was linked to the vasodilator effect of the drugs previously administered, such as propofol (Berry 2015), acepromazine (Rankin, 2015) and isoflurane (Mutoh et al. 1997, Valverde et al. 2012), because in the following phases the average values had already been restored.

After the surgical procedure, behavioral responses to pain can be affected by the sedative effect of anesthetics (Tsai et al. 2013). The postoperative pain scale assesses spontaneous and evoked behaviors of the animal in the cage, interactions with the animal and clinical observations (Holton et al. 2001). In addition, manipulation of recovering patients can induce a change in sedation status and interfere with the observation of pain-related behavior (Tsai et al. 2013). In order to minimize the failures in the interpretation of pain scales, observational data were collected before the procedures that required interaction with the animals and sedation scores were used in the first four hours after surgery. Sedation scores have shown to have direct interference in GCS because the higher the sedation scores, the higher the GCS scores.

In the assessment of postoperative pain, by GCS and VAS, the animals did not obtain values for rescue analgesia and there was no difference between FM and MNano groups, demonstrating that the nanoencapsulated meloxicam used in the study has analgesic qualities similar to free meloxicam. However, the highest values on the scales were observed in the first postoperative hours, what diverges from Hansen (2003) that describes postoperative pain presenting expected course, with a peak between 6 and 24 hours after surgical intervention, decreasing progressively. The degree of sedation associated with little movement in the room and minimal sound stimulus may have contributed to the attribution of the highest scores in the first hour.

The early return to baseline values on pain scales, which by GCS was at 3 hours postoperatively in FM and at four hours postoperatively in MNano, may be related to preemptive administration of meloxicam. The use of meloxicam 4 hours before surgery was intended to achieve a higher concentration of drug in the plasma at the time of the surgical procedure, based on study of pharmacokinetics of meloxicam administered orally in Beagle dogs (Yuan et al. 2009).

Previous studies have also shown efficacy in the analgesia provided by commercial meloxicam in a preemptive way in controlling postoperative pain (Mathews et al. 2001; Leece et al. 2005, Tsai et al. 2013;). Leece et al. (2005) showed analgesic efficacy of meloxicam administered at the time of pre-anesthetic medication for OH surgical procedure, subcutaneous, at the dose of 0.2 mg kg^{-1} , followed by daily oral administration (0.1 mg kg^{-1}) for 72 hours. However, in the present study, analgesia was considered adequate with only a single dose administered orally, of both meloxicam formulations, bringing an alternative to the veterinary routine by reducing stress due to less manipulation of animals for medication administration, lower cost of treatment and less exposure to the medication that is known to have side effects.

Bandinelli et al. (2019) demonstrated that meloxicam administered at a dose of 0.2 mg kg^{-1} , subcutaneous, before anesthetic induction, demanded the use of rescue analgesia in some dogs after laparoscopic ovariectomy and laparoscopic-assisted gastropexy. Canines and felines that received meloxicam (0.1 mg kg^{-1} , orally) two hours before surgery needed rescue analgesia in the postoperative phase of OH and elective orchiectomy (Quarterone et al. 2017). Such results differ from the present study, where the effectiveness of the two formulations was evident when used in the dose of 0.2 mg kg^{-1} , 4 hours before the procedure, orally, as a single administration, which can be justified by the time when meloxicam was administered. Thus, it is suggested that the formulations reached desired concentrations at the time of surgery and promoted a reduction in the production of prostaglandins that sensitize nociceptors to inflammation mediators (Rang et al. 2016), contributing to postoperative analgesia.

Regarding side effects, 30% of the animals in the FM group showed signs of gastrointestinal tract injury. However, the degree of intensity was considered mild, since there were isolated episodes. The most common adverse effects found with the use of NSAIDs are gastrointestinal and renal injuries (Khan & Mclean 2012). Even at therapeutic doses, this class of drugs can cause damage to the gastric and intestinal mucosa, predisposing to emesis, occult intestinal bleeding and diarrhea (Boothe, 2001). The milder results may be associated with the selective action of meloxicam by COX-2. Selective NSAIDs are considered safer for the gastrointestinal tract of dogs (Mathews 2002), since they have minimal action on COX-1, considered to be primarily responsible for the maintenance of the defense mechanisms of the mucosa (Costa et al. 2007). However, it was possible to observe that the animals in the MNano group did not show any clinical signs related to the gastrointestinal tract,

demonstrating the possibility of nanocarriers reducing the adverse effects of drugs through the effectiveness in delivering the molecule to the target site.

Suppression of prostaglandin synthesis caused by NSAIDs associated with hypovolemia during surgery can lead to ischemia and kidney damage. Kidney injuries are generally associated with the use of high doses or with possible risk factors (Elwood et al. 1992). Meloxicam has been shown to be safe from adverse effects and with little action on prostaglandins and COX-1 (Costa et al. 2007). In this study, despite being a late marker of renal function, the serum creatinine of all dogs evaluated after 48h of the surgical procedure was within the typical reference parameters for the species. The glomerular filtration rate could represent a better assessment of renal function, because it represents a good marker of progression of kidney disease or kidney injury, even in the early stages (Raekallio et al. 2006).

Inhibition of COX-1 activity by non-selective NSAIDs can also reduce platelet aggregation, altering or even inhibiting hemostasis. However, selectivity for COX-2 appears to preserve canine platelet function and have no relevant effect on thromboxane production or platelet aggregation (Jones & Budsberg 2000). The bleeding time performed in the study remained within the normal standards for the species in both groups, suggesting that the formulations and dose administered do not damage primary hemostasis in healthy dogs submitted to elective OH. The same results have been observed in other studies in healthy dogs treated with preemptive meloxicam, submitted to OH (Fresno et al. 2005) and laparotomy, splenectomy and cystotomy (Mathews et al., 2001).

Considering the possible benefits of nanoencapsulated meloxicam, such as reducing the adverse effects of drugs through the effectiveness in delivering the molecule to the target site, and its incipient use in canines, the authors encourage the development of further studies, to obtain clarifications that support the expansion of its indications, mainly for its long-term use.

Conclusion

Free meloxicam and the new formulation of nanoencapsulated meloxicam promoted satisfactory postoperative analgesia in healthy dogs submitted to OH when administered orally, in a single dose, 4 hours before the surgical procedure. There was no difference between groups in intraoperative analgesia. However, only animals treated with free meloxicam had side effects related to the gastrointestinal tract in the postoperative period, demonstrating the possibility of the presence of nanocarriers in the formulation of

nanoencapsulated meloxicam to reduce the adverse effects of drugs through the effectiveness in delivering the molecule to the target site. Thus, a safe and effective nanostructured formulation was developed as an alternative formulation to commercial products.

References

Aleixo GAS, Tudury EA, Coelho MCOC et al (2016) Tratamento da dor em pequenos animais: fisiopatologia e reconhecimento da dor (revisão de literatura: parte I). *Medicina Veterinária (UFRPE)* 10, 19-24.

Andrade SF (2008) *Manual Da Terapêutica Veterinária* (3 ed), Roca, São Paulo. 97-113.

Berry SH (2015) Injectable Anesthetic. In: Lumb & Jones' *Veterinary Anesthesia and Analgesia* (5ed). Grimm KA, Lamont LA, Tranquilli WJ, Greene SA, Robertson SA. (eds). Wiley Blackwell, Ames, Iowa. 277-296.

Bustamante R, Daza MA, Canfran S et al. (2018) Comparison of the postoperative analgesic effects of cimicoxib, buprenorphine and their combination in healthy dogs undergoing ovariohysterectomy. *Vet Anaesth Analg* 45, 545-556.

Costa PRS, Araújo RB, Costa MC, Maia REN (2007) Endoscopia gastroduodenal após administração de nimesulida, monofenilbutazona e meloxicam em cães. *Arq Bras Med Vet Zootec* 59, 903-909.

Del Tacca M, Colucci R, Fornai M, Blandizzi C (2002) Efficacy and tolerability of meloxicam, a COX-2 preferential nonsteroidal anti-inflammatory drug. *Clin Drug Invest* 22, 799–818.

Duarte LTD, Saraiva RS (2005). Imobilidade: Uma ação essencial dos anestésicos inalatórios. *Rev Bras Anesthesiol* 55, 100-117.

Elwood C, Boswood A, Simpson K et al. (1992) Renal failure after flunixin meglumine administration. *Vet Rec* 130, 582–583.

Epstein M, Rodan I, Griffenhagen G et al. (2015) Pain management guidelines for dogs and cats. *J Am Anim Hosp Assoc* 51, 67–84.

Fantoni DT, Mastrocinque S (2009) Fisiopatologia e Controle da Dor Aguda. In: *Anestesia em cães e gatos* (2ed). Fantoni DT, Cortopassi SRG (eds). São Paulo, Roca. 521-544.

Fantoni DT (2012) Fatos históricos: a dor como sinal vital; a ética no tratamento da dor; princípios básicos de farmacocinética e farmacodinâmica dos analgésicos para alívio da dor. In: *Tratamento da dor na clínica de pequenos animais* (1ed). Fantoni DT (ed). Elsevier, Rio de Janeiro. 3-27.

Fresno L, Moll J, Penñalba B et al. (2005) Effects of preoperative administration of meloxicam on whole blood platelet aggregation, buccal mucosal bleeding time, and haematological indices in dogs undergoing elective ovariohysterectomy. *Vet J* 170, 138–140.

Fossum TW (2014) *Cirurgia de Pequenos Animais* (4ed), Elsevier, Rio de Janeiro, p. 1619.

Gaynor JS, Muir III WW (2008) *Handbook of Veterinary Pain Management* (2ed), Elsevier, St Louis, Mosby, pp. 42-55.

Grider JS, Ackerman WE (2008) Opioid-induced hyperalgesia and tolerance: Understanding opioid side effects. *Expert Rev Clin Pharmacol* 1, 291-297.

Hansen BD (2003) Assessment of pain in dogs: *Veterinary Clinical Studies*. *ILAR J* 44, 197-205.

Haskins SC (2015) Monitoring Anesthetized Patients. In: *Lumb & Jones' Veterinary Anesthesia and Analgesia* (5ed) Grimm KA, Lamont LA, Tranquilli WJ, Greene SA, Robertson SA (eds). Wiley Blackwell, Ames, Iowa. 86-113.

Höglund OV, Olsson K, Hagman R et al. (2011) Comparison of haemodynamic changes during two surgical methods for neutering female dogs. *Res Vet Sci* 91, 159–163.

Ianiski FR (2011) Efeito neuroprotetor de nanocápsulas contendo meloxicam em um modelo da Doença de Alzheimer induzido pelo peptídeo β - amiloide em camundongos. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Nanociências) - Centro Universitário Franciscano, Santa Maria, RS, 84p.

Ianiski FR (2016) Análise do efeito do meloxicam nanoencapsulado em diferentes modelos de doenças associadas à inflamação em camundongos. Tese (Programa de Pós-Graduação em Nanociências) - Centro Universitário Franciscano, Santa Maria, RS, 219p.

Jones CJ, Budsberg SC (2000) Physiologic characteristics and clinical importance of cyclooxygenase isoforms in dogs and cats. *J Am Vet Med Assoc* 217, 721–729.

Karademir U, Aksit D, Kum C et al. (2016) The effect of surgery (Ovariohysterectomy) on the plasma disposition of meloxicam following intravenous administration in dogs. *BMC Vet Res* 12, 1-7.

Khan S, Mclean MK (2012) Toxicology of Frequently Encountered Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs in Dogs and Cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 42, 289-306.

Kum C, Voyvoda H, Sekkin S et al. (2013) Effects of carprofen and meloxicam on Creactiveprotein, ceruloplasmin, and fibrinogen concentrations in dogs under going ovariohysterectomy. *Am J Vet Res* 74, 1267-1273.

Lambertini C, Kluge K, Lanza-Perea M et al. (2018) Comparison of intraperitoneal ropivacaine and bupivacaine for postoperative analgesia in dogs undergoing ovariohysterectomy. *Vet Anaesth Analg* 45, 865-870.

Ledowski T, Bein B, Hanss R et al. (2005) Neuroendocrine stress response and heart rate variability: a comparison of total intravenous versus balanced anesthesia. *Anesthesia and Analgesia* 101, 1700–1705.

Lemke KA, Runyon CL, Horney BS (2002) Effects of preoperative administration of ketoprofen on whole blood platelet aggregation, buccal mucosal bleeding time, and

hematologic indices in dogs undergoing elective ovariohysterectomy. *J Am Vet Med Assoc* 220, 1818-22.

Leece EA, Brearley JC, Harding EF (2005) Comparison of carprofen and meloxicam for 72 hours following ovariohysterectomy in dogs. *Vet Anaesth Analg* 32, 184-192.

Malm C, Rocha PRS, Gheller VA et al. (2005) Ovário-histerectomia: estudo experimental comparativo entre as abordagens laparoscópicas e aberta na espécie canina. II – Evolução clínica pósoperatória. *Arq Bras Med Vet Zootec* 57, 162-172.

Mathews KA, Pettifer G, Foster R, McDonell W (2001) Safety and efficacy of preoperative administration of meloxicam, compared with that of ketoprofen and butorphanol in dogs undergoing abdominal surgery. *Am J Vet Res* 62, 882–887.

Mathews KA (2002) Non-steroidal anti-inflammatory analgesics: a review of current practice. *J. Vet. Emerg. Crit. Care* 12, 89-97.

Mishra BBTS, Patel BB, Tiwari S (2010) Colloidal nanocarriers: a review on formulation technology, types and applications toward targeted drug delivery. *Nanomedicine: Nanotechnology, biology and medicine* 6, 9-24.

Mutoh T, Nishimura R, Kim HY et al. (1997). Cardiopulmonary effects of sevoflurane, compared with halothane, enflurane, and isoflurane, in dogs. *Am J Vet Res* 58, 885-90.

Nakama KA, Santos RB, Silva CER et al. (2018) Establishment of analytical method for quantification of anti-inflammatory agents co-nanoencapsulated and its application to physicochemical development and characterization of lipid-core nanocapsules. *Arab J Chem*.

Papich MG, Messenger K (2017) Antiinflamatórios Não Esteroides. In: Lumb & Jones *Anestesiologia e Analgesia em Veterinária* (5ed) Grimm KA, Lamont LA, Tranquilli WJ, Greene SA, Robertson AS (eds). Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 220-236.

Paul-Murphy J (2007) Pain Management. In: *Clinical Avian Medicine*. Harrison GJ, Lightfoot TL (eds). International Veterinary Information, Ithaca, New York, USA.

Quarterone C, Luna SPL, Crosignani N (2017) Ovariohysterectomy requires more post-operative analgesia than orchiectomy in dogs and cats. *Can Vet J* 58, 1191-1194.

Raekallio MR, Hielm-Bjorkman AN, Kejone J et al. (2006) Evaluation of adverse effects of long-term orally administered carprofen in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 228, 876-80.

Rang HP, Ritter JM, Flower RJ, Henderson G (2016) Fármacos anti-inflamatórios e imunossupressores. In: Rang & Dale Farmacologia (8ed) Rang HP, Ritter JM, Flower RJ, Henderson G (eds). São Paulo, Elsevier.

Rankin DC (2015) Sedatives and Tranquilizers. In: Lumb & Jones' Veterinary Anesthesia and Analgesia (5ed). Grimm KA, Lamont LA, Tranquilli WJ, Greene SA, Robertson SA (eds). Wiley Blackwell, Ames, Iowa. 196-206.

Redondo JI, Rubio M, Soler G et al. (2007) Normal values and incidence of cardio respiratory complications in dogs during general anaesthesia. A review of 1281 cases. *J Vet Med* 54, 470-477.

Shahiwala A, Misra A (2002) Studies in topical application niosomally entrapped nimesulida. *J Pharm Pharm Sci* 5, 220-225.

Tallant A, Ambros B, Freire C, Sakals S (2016) Comparison of intraoperative and postoperative pain during canine ovariohysterectomy and ovariectomy. *Can Vet J* 57, 741-6.

Tasaka AC (2017) Anti-inflamatórios não esteroidais. In: Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária (6ed). Spinosa HS, Górnaiak SL, Bernardi MM (eds). Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 256- 275.

Tranquilli WJ, Grimm KA, Lamont LA (2005). Tratamento da dor para o clínico de pequenos animais (2ed), Roca, São Paulo, p.130.

Tsai TY, Chang SK, Chou PY, Yeh LS (2013) Comparison of postoperative effects between lidocaine infusion, meloxicam, and their combination in dogs undergoing ovariohysterectomy. *Vet Anaesth Analg* 40, 615–622.

Valverde A, Gianotti G, Rioja-Garcia E, Hathway A (2012) Effects of high-volume, rapid-fluid therapy on cardiovascular function and hematological values during isoflurane-induced hypotension in healthy dogs. *Can J Vet Res* 76, 99–108.

Vieira DB, Gamarra LF (2016) Getting into the brain: liposome-based strategies for effective drug delivery across the blood–brain barrier. *Int J Nanomedicine* 11, 5381–5414.

Yuan Y, Chen XY, Li SM et al. (2009) Pharmacokinetic studies of meloxicam following oral and transdermal administration in beagle dogs. *Acta Pharmacol Sin* 30, 1060–1064.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados coletados nos períodos trans e pós-operatório das pacientes estão representados abaixo em forma de tabela.

5.1 Dados dos parâmetros das pacientes durante anestesia

As médias (média \pm desvio padrão) da pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) estão esquematizadas em três fases na Tabela 2. A fase 0 contemplou o período entre a indução anestésica e breve momento anterior à incisão de pele. A fase 1 abrangeu desde a incisão de pele até breve momento anterior à celiorrafia. Por fim, a fase 3 representou a celiorrafia.

TABELA 1: Média e desvio padrão da pressão arterial média (PAM – mmHg) e da frequência cardíaca (FC – bpm) mensuradas e divididas em fases durante anestesia para procedimento cirúrgico de OH em cadelas que receberam meloxicam livre (ML) ou meloxicam nanoencapsulado (MNano).

	Fase 0		Fase 1		Fase 2	
	PAM	FC	PAM	FC	PAM	FC
ML	56,77 \pm 2,61	93,67 \pm 2,86	87,08 \pm 2,47	95,42 \pm 2,35	68,04 \pm 3,00	101,67 \pm 2,35
MNano	51,19 \pm 1,07	73,60 \pm 1,28	80,15 \pm 1,93	92,63 \pm 2,76	67,73 \pm 1,50	100,62 \pm 3,71

Os valores de frequência cardíaca se mantiveram dentro do considerado fisiológico para a espécie canina. De modo geral, os anestésicos inalatórios podem deprimir o sistema cardiovascular e respiratório de maneira dose dependente (STEFFEY et al., 2015). Além disso, a anestesia pode influenciar a variabilidade da frequência cardíaca (LEDOWSKI et al., 2005), uma vez que a redução nos parâmetros cardiovasculares é considerada um efeito normal devido a depressão ocasionada pelos anestésicos (HASKINS, 2015).

A pressão arterial dos animais teve maiores variações, demonstrando valores abaixo e acima do fisiológico para a espécie. A pressão arterial pode se alterar conforme nível de stress, posição do paciente e técnica utilizada para aferição (HASKINS, 2015). Fármacos

como o propofol e a acepromazina podem causar hipotensão, uma vez que causam vasodilatação (BERRY, 2015; RANKIN, 2015).

5.2 Creatinina

A mensuração da creatinina (mg/dL) foi realizada antes do procedimento cirúrgico (CBasal) e 24 e 48 horas após administração das formulações, conforme tabela 3.

TABELA 2: Dados de creatinina (mg/dL) realizados antes e depois do procedimento cirúrgico de OH em cadelas que receberam meloxicam livre (ML) ou meloxicam nanoencapsulado (MNano).

Creatinina	CBasal	24h	48h
MNano	0,72	0,65	0,69
MNano	1,05	0,86	0,94
ML	1,11	0,88	0,94
MNano	0,9	0,86	0,84
ML	0,81	0,75	0,71
MNano	1	1,09	0,96
MNano	0,98	0,92	0,94
ML	0,6	1,10	0,94
MNano	0,89	0,81	0,92
MNano	1,25	1,03	1,10
MNano	0,9	0,83	0,68
ML	0,89	0,86	1,03
ML	0,88	0,56	0,9
ML	0,11	0,7	0,74
ML	0,69	-	-
MNano	1,06	0,72	0,81
ML	0,99	0,92	0,73
ML	1,02	0,93	0,80
ML	0,8	0,90	0,81
MNano	1,18	0,85	0,95

A administração das formulações não alterou os valores de creatinina, uma vez que não diferiram da creatinina basal. A cirurgia, a hipovolemia e a supressão da síntese de prostaglandinas causada pelos AINEs podem levar a isquemia e dano renal (ELWOOD et al., 1992) e por isso a importância da mensuração desta enzima.

5.2 Tempo de sangramento da mucosa labial

A tabela esquematizada abaixo (Tabela 4) demonstra os dados do tempo de sangramento da mucosa labial das pacientes antes da administração das formulações (S0), 4 horas após (S4), ao término do procedimento cirúrgico (SF) e 12 horas (S12) após o meloxicam.

TABELA 3: Tempo de sangramento da mucosa labial (TS) em minutos de pacientes antes e depois do procedimento cirúrgico de OH em cadelas que receberam meloxicam livre (ML) ou meloxicam nanoencapsulado (MNano).

TS	S0	S4	Sfinal	S12
MNano	01:37	01:20	02:54	00:40
MNano	00:25	00:29	01:43	01:02
ML	00:46	01:41	01:41	00:53
MNano	00:47	01:15	01:35	01:30
ML	00:30	01:24	01:33	00:26
MNano	00:44	00:32	01:25	00:55
MNano	00:36	00:58	01:20	00:45
ML	01:05	00:49	01:10	01:02
MNano	00:36	01:03	01:05	00:43
MNano	00:40	00:45	01:02	00:35
MNano	00:48	01:01	01:01	01:07
ML	00:53	00:41	00:59	00:43
ML	01:19	00:45	00:55	1:10
ML	01:21	01:03	00:51	00:48
ML	00:56	01:25	00:50	00:48
MNano	00:37	00:31	00:48	00:29
ML	00:39	00:42	00:43	00:30
ML	00:31	00:35	00:38	00:32
ML	00:37	00:40	00:35	00:36
MNano	00:26	00:24	00:27	00:26

O tempo de sangramento realizado no estudo permaneceu dentro dos padrões normais para a espécie nos dois grupos, sugerindo que a administração das formulações não prejudicou a hemostasia primária das pacientes. Acredita-se que maior seletividade do meloxicam pela COX-2 não influencie a função das plaquetas, conforme estudos também realizados em cadelas submetidas à OH (CAULKETT et al., 2003; FRESNO et al., 2005).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A nova formulação de meloxicam nanoencapsulado apresentou resultados satisfatórios no controle da dor pós-operatória em cães saudáveis submetidos à OH, demonstrando qualidades analgésicas semelhantes ao meloxicam livre, quando administrada via oral, em dose única, 4 horas antes do procedimento cirúrgico. Não houve diferença entre os grupos na analgesia transoperatória. Apenas animais tratados com meloxicam livre apresentaram efeitos colaterais relacionados ao trato gastrointestinal no pós-operatório. Dessa forma, desenvolveu-se uma formulação nanoestruturada segura e eficaz como formulação alternativa aos produtos comerciais.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEIXO, G.A.S; TUDURY, E.A.; COELHO, M.C.O.C.; et al. **Tratamento da dor em pequenos animais: fisiopatologia e reconhecimento da dor (revisão de literatura: parte I)**. Medicina Veterinária (UFRPE), Recife, v.10, n.1-4, p.19-24, 2016.

ANDRADE, S.F. **Manual Da Terapêutica Veterinária** (3 ed). São Paulo: Roca, 2008.

ANTON, N.; BENOIT, J.; SAULNIER, P. **Design and production of nanoparticles formulated from nano-emulsion templates—a review**. Journal of Controlled Release, v. 128, n. 3, p. 185-199, 2008.

AZEVEDO, P.R.A.S. **A problemática da dor no período peri-operatório em canídeos**. Dissertação de Mestrado. Universidade Técnica de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa, 2009.

BASSANEZI, B.S.B.; OLIVEIRA FILHO, A.G. **Analgesia pós-operatória**. Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgia, v. 33, n. 2, p.116-122, mar./abr. 2006.

BERRY, S.H. **Injectable Anesthetic**. In: GRIMM, K.A.; LAMONT, L.A.; TRANQUILLI, W.J.; GREENE, S.A.; ROBERTSON, S.A. *Lumb & Jones' Veterinary Anesthesia and Analgesia*. 5. ed. Ames, Iowa: Wiley blackwell, p. 277-296, 2015.

BOOTHE, D.M. **Anti-inflammatory drugs**. In: BOOTHE, D.M. *Small Animal Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 1. ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, p.281-311, 2001.

BOTTING, R.M. **Cyclooxygenase: Past, present and future. A tribute to John R.Vane (1927–2004)**. Journal of Thermal Biology, 31:208–19, 2006.

BUDSBERD, S. **Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs**. In: GAYNOR, J.S.; MUIR III W.W. *Handbook of Veterinary Pain Management*. St Louis: Mosby: p. 183- 201, 2008.

BUFALARI, A.; ADAMI, C.; ANGELI, G.; SHORT, C.E. **Pain assessment in animals**. Veterinary Research Communications, v. 3, n.1, p. 55-58, 2007.

BUSTI, A.J.; HOOPER, J.S.; AMAYA, C.J.; KAZI, S. **Effects of perioperative antiinflammatory and immunomodulating therapy on surgical wound healing**. Pharmacotherapy, v. 25, p. 1566-1591, 2005.

BUSTAMANTE, R.; DAZA, MA.; CANFRAN, S.; et al. **Comparison of the postoperative analgesic effects of cimicoxib, buprenorphine and their combination in healthy dogs undergoing ovariohysterectomy.** *Veterinary Anesthesia and Analgesia* v. 45, p. 545-556, 2018.

CABAN, S.; AYTEKIN, E.; SAHIN, A.; CAPAN, Y. **Nanosystems for drug delivery.** *Drug delivery*, v. 2, n. 1, p. 2, 2014.

CARRENO, F.; PAESE, K.; SILVA, C.M.; GUTERRES, S.S.; DALLA COSTA, T.A. **Pharmacokinetic investigation of quetiapine transport across blood-brain barrier mediated by lipid core nanocapsules using brain microdialysis in rats.** *Molecular Pharmaceutics*, v. 13, p. 1289–1297, 2016.

CAULKETT, N.; READ, M.; FOWLER, D.; WALDNER, C. **A comparison of the analgesic effects of butorphanol with those of meloxicam after elective ovariohysterectomy in dogs.** *Canadian Veterinary Journal* v. 44, p. 565-570, 2003.

COSTA, P.R.S.; ARAÚJO, R.B.; COSTA, M.C.; MAIA, R.E.N. **Endoscopia gastroduodenal após administração de nimesulida, monofenilbutazona e meloxicam em cães.** *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 59, p. 903-909, 2007.

DAVIES, N.M.; SKJODT, N.M. **Clinical pharmacokinetics of meloxicam.** *Clinical Pharmacokinetics*, v. 36, p. 115–26, 1999.

DEL TACCA, M.; COLUCCI, R.; FORNAI, M.; BLANDIZZI, C. **Efficacy and tolerability of meloxicam, a COX-2 preferential nonsteroidal anti-inflammatory drug.** *Clinical Drug Investigation*, v. 22, p. 799–818, 2002.

DUARTE, L. T. D.; SARAIVA, R. S. **Imobilidade: Uma ação essencial dos anestésicos inalatórios.** *Revista Brasileira de Anestesiologia*. Rio de Janeiro, v.55, n.1, p.100-117, 2005.

DUGDALE, A. **Veterinary anaesthesia - Principles to practice.** Oxford; Liverpool, UK:Blackwell, 2010.

ELWOOD, C.; BOSWOOD, A.; SIMPSON, K.; et al. **Renal failure after flunixin meglumine administration.** *Veterinary Record*, v. 130, p. 582–583, 1992.

ENGELHARDT, G.; HOMMA, D.; SCHLEGEL, K.; UTZMANN, R.; SCHNITZLER, C. **Meloxicam: a potent inhibitor of adjuvant arthritis in the Lewis rat.** *Inflammation Research*, v. 44, p.548–55, 1995.

EPSTEIN, M. et al. **AAHA/AAFP Pain Management Guidelines for Dogs and Cats**. Journal of the American Animal Hospital Association. v.51. p.67-84, 2015.

FANTONI, D.T.; MASTROCINQUE, S. **Fisiopatologia e Controle da Dor Aguda**. In: FANTONI, D.T.; CORTOPASSI, S.R.G. Anestesia em cães e gatos. 2. ed. São Paulo: Roca, p. 521-544, 2009.

_____. **Fatos históricos: a dor como sinal vital; a ética no tratamento da dor; princípios básicos de farmacocinética e farmacodinâmica dos analgésicos para alívio da dor**. In: FANTONI, D.T. Tratamento da dor na clínica de pequenos animais. Rio de Janeiro: Elsevier, cap.1-3, p.3-27, 2012.

FLÔR, P. B.; MARTINS, T, L.; YASBEK, K. V. B. **Avaliação da dor**. In: FANTONI, D. Tratamento da Dor na Clínica de Pequenos Animais. Rio de Janeiro: Elsevier, cap. 9, p. 81-92, 2011.

FOSSUM, T.W. **Cirurgia de Pequenos Animais**. 4.ed. Rio de Janeiro:Elsevier, 1619p., 2014.

FRESNO, L.; MOLL, J.; PENÑALBA, B.; et al. **Effects of preoperative administration of meloxicam on whole blood platelet aggregation, buccal mucosal bleeding time, and haematological indices in dogs undergoing elective ovariohysterectomy**. The Veterinary Journal, v. 170, p. 138–140, 2005.

GAYNOR, J.S.; MUIR III, W.W. **Handbook of Veterinary Pain Management**. 2. ed. Elsevier, St Louis, Mosby, pp. 42-55, 2008.

GRIDER, J.S.; ACKERMAN, W.E. **Opioid-induced hyperalgesia and tolerance: Understanding opioid side effects**. Expert Review of Clinical Pharmacology, v. 1, n. 2, p. 291-297, 2008.

GRINT, N.J.; MURISON, P.J.; COE, R.J.; WATERMAN-PEARSON, A. E. **Assessment of the influence of surgical technique on postoperative pain and wound tenderness in cats following ovariohysterectomy**. Journal of Feline Medicine and Surgery, London, v. 8, n. 1, p. 15-21, 2006.

HANFT, G.; TURCK, D.; SCHEUERER, S.; SIGMUND, R. **Meloxicam oral suspension: a treatment alternative to solid meloxicam formulations**. Inflammation Research, v. 50, p. 35–37, 2001.

HANSEN, B.D. **Assessment of pain in dogs: Veterinary Clinical Studies.** In: ILAR Journal, v. 44, n. 3, p. 197-205, 2003.

HASKINS, S.C. **Monitoring Anesthetized Patients.** In: GRIMM, K.A.; LAMONT, L.A.; TRANQUILLI, W.J.; GREENE, S.A.; ROBERTSON, S.A. Lumb & Jones' Veterinary Anesthesia and Analgesia. 5. ed. Ames, Iowa: Wiley Blackwell, p.86-113, 2015.

HELLYER, P. W. **Pain Identification.** In: S. ETTINGER, S. & FELDMAN C. Textbook of Veterinary Internal Medicine. St. Louis: Elsevier Inc., v. 1, pp. 16-21, 2005.

_____; ROBERTSON, S.A.; FAILS, A.D. **Pain and its management.** In: TRANQUILLI W.J., THURMON J.C., GRIMM K.A. Lumb & Jones' Veterinary Anaesthesia and Analgesia. 4. ed. Blackwell Publishing, cap. 3, p. 31-53, 2007.

HILÁRIO, M. O. E.; TERRERI, M. T.; LEN, C. A. **Anti-inflamatórios não hormonais: inibidores da ciclooxygenase 2.** Jornal de Pediatria, v.82, n.5, 2006.

HÖGLUND, O.V.; OLSSON, K.; HAGMAN, R.; et al. **Comparison of haemodynamic changes during two surgical methods for neutering female dogs.** Research in Veterinary Science, .v. 91, p. 159–163.

HOLTON, L.; REID, J.; SCOTT, E.M.; PAWSON, P.; NOLAN, A. **Development of a behaviour-based scale to measure acute pain in dogs.** Veterinary Record, v. 148, p. 525-531, 2001.

IANISKI, F.R. **Efeito neuroprotetor de nanocápsulas contendo meloxicam em um modelo da Doença de Alzheimer induzido pelo peptídeo β - amiloide em camundongos.** 84f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Nanociências) - Centro Universitário Franciscano, Santa Maria - RS, 2011.

_____. **Análise do efeito do meloxicam nanoencapsulado em diferentes modelos de doenças associadas à inflamação em camundongos.** 219f. Tese (Programa de Pós-Graduação em Nanociências) - Centro Universitário Franciscano, Santa Maria – RS, 2016.

JONES, C.J.; BUDSBERG, S.C. **Physiologic characteristics and clinical importance of cyclooxygenase isoforms in dogs and cats.** Journal of the American Veterinary Medical Association, v. 217, p. 721–729, 2000.

KARADEMIR, U.; AKSIT, D.; KUM, C.; et al. **The effect of surgery (Ovariohysterectomy) on the plasma disposition of meloxicam following intravenous administration in dogs.** BMC Veterinary Research. v.12, n.33. p.1-7, 2016.

KAY-MUGFORD, P.; BENN, S.J.; LAMARRE, J.; CONLON, P. In vitro effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on cyclooxygenase activity in dogs. American Journal of Veterinary Research, v. 61, p. 802–10, 2000.

KHAN, S.; MCLEAN, M.K. **Toxicology of Frequently Encountered Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs in Dogs and Cats.** Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, v. 42, p. 289-306, 2012.

KHURANA, S.; JAIN, N. K.; BEDI, P. M. S. **Nanostructured lipid carriers based nanogel for meloxicam delivery: Mechanistic, in-vivo and stability evaluation.** Drug Development and Industrial Pharmacy, v.41, n.8, p.1368-1375, 2015.

KUM, C.; VOYVODA, H.; SEKKIN, S.; KARADEMIR, U.; TARIMCILAR, T. **Effects of carprofen and meloxicam on Creactiveprotein, ceruloplasmin, and fibrinogen concentrations in dogs under going ovariohysterectomy.** American Journal of Veterinary Research, v.74, n.10, p.1267-1273, 2013.

LAMBERTINI, C.; KLUGE, K.; LANZA-PEREA, M.; et al. **Comparison of intraperitoneal ropivacaine and bupivacaine for postoperative analgesia in dogs undergoing ovariohysterectomy.** Veterinary Anesthesia and Analgesia, v. 45, p. 865-870, 2018.

LAMONT, L.A.; MATHEWS, K.A. **Opioids, nonsteroidal antiinflammatories and analgesic adjuvants.** In: LUMB & JONES. Veterinary Anesthesia and Analgesia. Blackwell Publishing Ames, p. 241-271, 2008.

LANDONI, M. F. **Antiinflamatórios não esteroidais.** In: OTERO, P. E. Dor: avaliação e tratamento em pequenos animais. São Caetano do Sul: Interbook, cap. 8, p. 112-121, 2005.

LEDOWSKI, T.; BEIN, B.; HANSS, R.; et al. **Neuroendocrine stress response and heart rate variability: a comparison of total intravenous versus balanced anesthesia.** Anesthesia and Analgesia, v. 101, p. 1700–1705, 2005.

LEECE, E.A.; BREARLEY, J.C.; HARDING, E.F. **Comparison of carprofen and meloxicam for 72 hours following ovariohysterectomy in dogs.** Veterinary Anaesthesia and Analgesia, v. 32, p. 184-192, 2005.

LEMKE, K.A.; RUNYON, C.L.; HORNEY, B.S. **Effects of preoperative administration of ketoprofen on whole blood platelet aggregation, buccal mucosal bleeding time, and hematologic indices in dogs undergoing elective ovariohysterectomy.** Journal of the American Veterinary Medical Association, v. 220, n.12, p.1818-22, 2002.

LERCHE, P.; MUIR, W. **Analgesia.** In: CARROL, G. L. Anestesia e analgesia de Pequenos Animais. São Paulo: Manole, cap.9, p.143-165, 2012.

MATHEWS, K.A.; PETTIFER, G.; FOSTER, R.; MCDONELL, W. **Safety and efficacy of preoperative administration of meloxicam, compared with that of ketoprofen and butorphanol in dogs undergoing abdominal surgery.** American Journal of Veterinary Research, v. 62, p. 882–887, 2001.

MALM, C.; ROCHA, P.R.S.; GHELLER, V.A.; et al. **Ovário-histerectomia: estudo experimental comparativo entre as abordagens laparoscópicas e aberta na espécie canina. II – Evolução clínica pósoperatória.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 57, n. 5, p. 162-172, 2005.

MELO, C.P.; PIMENTA, M. **Nanociências e Nanotecnologia.** Parcerias Estratégicas, v. 9, n.18, 2004.

MISHRA, B.B.T.S.; PATEL, B.B.; TIWARI, S. **Colloidal nanocarriers: a review on formulation technology, types and applications toward targeted drug delivery.** Nanomedicine: Nanotechnology, biology and medicine, v. 6, n. 1, p. 9-24, 2010.

MORTON, C.M.; REID, J.; SCOTT, M.; HOLTON, L.L.; NOLAN, A.M. **Application of a scaling model to establish and validate an interval level pain scale for assessment of acute pain in dogs.** American Journal of Veterinary Research, v. 66, n. 12, 2005.

MURREL, J. C.; PSATHA, E. P.; SCOTT, E. M., et al. **Application of a modified form of the Glasgow pain scale in a veterinary teaching centre in the Netherlands.** Veterinary Record, v. 162, p. 403-408. 2008.

MUTOH, T.; NISHIMURA, R.; KIM, H.Y.; et al. **Cardiopulmonary effects of sevoflurane, compared with halothane, enflurane, and isoflurane, in dogs.** American Journal of Veterinary Research, v. 58, p. 885-90, 1997.

NAKAMA, K.A.; SANTOS, R.B.; SILVA, C.E.R., et al. Establishment of analytical method for quantification of anti-inflammatory agents co-nanoencapsulated and its application to physicochemical development and characterization of lipid-core nanocapsules. Arabian Journal of Chemistry, 2018.

OTERO, P.E. **Dor: Avaliação e tratamento em pequenos animais.** Interbook, São Paulo, 293p., 2005.

PAPICH, M.G. **An update on nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs).** Veterinary Clinics Small Animal Practice, v.38, p.1243-1266, 2008.

_____; MESSENGER, K. **Antiinflamatórios Não Esteroides.** In: GRIMM, K.A.; LAMONT, L.A.; TRANQUILLI, W.J.; GREENE, S.A.; ROBERTSON, A.S. Lumb & Jones' Anestesiologia e Analgesia em Veterinária. 5. ed. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, p. 220-236, 2017.

PAUL-MURPHY, J. **Pain Management.** In: HARRISON, G.J.; LIGHTFOOT, T.L. Clinical Avian Medicine. International Veterinary Information, Ithaca, New York, USA, 2007.

PIRES, P.A. **Potencial analgésico, antiedematogênico, antipirético e atividade ulcerogênica de fármacos antiinflamatórios em roedores.** 82f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2009.

QUARTERONE, C.; LUNA, S.P.L.; CROSIGNANI, N. **Ovariohysterectomy requires more post-operative analgesia than orchietomy in dogs and cats.** Canadian Veterinary Journal, v. 58, p. 1191-1194, 2017.

QUINN, M.M.; et al. **Evaluation between numerical rating scales, visual analog scoring scales, and force plate gait analysis in dogs.** Veterinary Surgery, v.36, n.4, p.360-367, 2007.

RAEKALLIO, M.R.; HJELM-BJORKMAN, A.N.; KEJONE, J.; et al. **Evaluation of adverse effects of long-term orally administered carprofen in dogs.** Journal of the American Veterinary Medical Association, v. 228, p. 876-80, 2006.

RANG, H.P.; RITTER, J.M.; FLOWER, R.J.; HENDERSON, G. **Fármacos anti-inflamatórios e imunossupressores.** In: RANG, H.P.; RITTER, J.M.; FLOWER, R.J.; HENDERSON, G. Rang & Dale Farmacologia. 8. Ed. São Paulo, Elsevier, 2016.

RANKIN, D.C. **Sedatives and Tranquilizers.** IN: GRIMM, K.A.; LAMONT, L.A.; TRANQUILLI, W.J.; GREENE, S.A.; ROBERTSON, S.A. Lumb & Jones' Veterinary Anesthesia and Analgesia. 5. ed. Ames, Iowa: Wiley Blackwell, p.196-206, 2015.

REDONDO, J.I.; RUBIO, M.; SOLER, G.; et al. **Normal values and incidence of cardio respiratory complications in dogs during general anaesthesia. A review of 1281 cases.** Journal of Veterinary Medicine, v. 54, p. 470-477, 2007.

SHAFFRAN, N. **Pain management: the technician's perspective.** Veterinary Clinics of North American: Small Animal Practice, v.38, p.1415-1429, 2008.

SHAHIWALA, A.; MISRA, A. **Studies in topical application niosomally entrapped nimesulida.** Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 5, p. 220-225, 2002.

SONDI, I.; SALOPEK-SONDI, B. **Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for Gram-negative bacteria.** Journal of colloid and interface science, v. 275, n. 1, p. 177-182, 2004.

SOPPIMATH, K.S.; et al. **Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices.** Journal of controlled release, v. 70, n. 1-2, p. 1-20, 2001.

STEFFEY, E.P.; MAMA, K.R.; BROSANAN, R.J. **Inhalation Anesthetics.** IN: GRIMM, K.A., LAMONT, L.A., TRANQUILLI, W.J.; GREENE, S.A., ROBERTSON, S.A. Lumb & Jones' Veterinary Anesthesia and Analgesia. 5. ed. Ames, Iowa: Wiley Blackwell, p.297-331, 2015.

TALLANT, A.; AMBROS, B.; FREIRE, C.; SAKALS, S. **Comparison of intraoperative and postoperative pain during canine ovariohysterectomy and ovariectomy.** Canadian Veterinary Journal, v. 57, p. 741-6, 2016.

TASAKA, A.C. **Anti-inflamatórios não esteroidais.** In: SPINOSA, H.S.; GÓRDIK, S. L.; BERNARDI, M.M. Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap. 20, p. 256- 275, 2017.

TEIXEIRA, F.M. **Avaliação comparativa do efeito de fármacos anti-inflamatórios com acupuntura no modelo de dor pósincisional em ratos.** 77f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica. 2010.

TRANQUILLI, W. J.; GRIMM, K. A.; LAMONT, L. A. **Tratamento da dor para o clínico de pequenos animais.** São Paulo: Roca, 2005.

TSAI, T.Y.; CHANG, S.K.; CHOU, P.Y.; YEH, L.S. **Comparison of postoperative effects between lidocaine infusion, meloxicam, and their combination in dogs undergoing ovariohysterectomy.** Veterinary Anaesthesia and Analgesia, v.40, p.615–622, 2013.

TÜRCK, D.; BUSCH, U.; HEINZEL, G.; et al. **Clinical pharmacokinetics of meloxicam.** Arzneimittel Forschung, v. 47, n. 3, p. 253-8, 1997.

VALVERDE, A.; GIANOTTI, G.; RIOJA-GARCIA, E.; HATHWAY, A. **Effects of high-volume, rapid-fluid therapy on cardiovascular function and hematological values during isoflurane-induced hypotension in healthy dogs.** The Canadian Journal of Veterinary Research, v. 76, p. 99 – 108, 2012.

VAN BREE, H.; JUSTUS, C.; QUIRKE, J.F. **Preliminary observations on the effects of meloxicam in a new model for acute intra-articular inflammation in dogs.** Veterinary Research Communication v.18, p.217-224, 1994.

VIEIRA, D.B.; GAMARRA, L.F. **Getting into the brain: liposome-based strategies for effective drug delivery across the blood–brain barrier.** International Journal of Nanomedicine, v.11, p. 1 5381–5414, 2016.

YAZBEK, K.V.B. **Avaliação da dor e da qualidade de vida em cães com câncer.** Revista Dor, São Paulo, v. 9, n.3, p. 1297-1304, 2008.

YUAN, Y.; CHEN, X.Y.; LI, S.M.; et al. **Pharmacokinetic studies of meloxicam following oral and transdermal administration in beagle dogs.** Acta Pharmacologica Sinica, v. 30, p. 1060–1064, 2009.

WEISSMANN, M. D. C. **The metabolic response to stress: na overview and update.** Anesthesiology, New York, v. 73, p. 308-327, 1990.

ZANUZZO, F.S. et al. **Effects of dipyrone, meloxicam, or the combination on hemostasis in conscious dogs.** Journal of Veterinary Emergency and Critical Care. v.25, n.4. p.512–520, 2015.