



# INFLUÊNCIA DA MORFINA SOBRE A FUNÇÃO FAGOCÍTICA E OXIDATIVA DE NEUTRÓFILOS EM CADELAS HÍGIDAS OU COM PIOMETRA SUBMETIDAS A OVARIOSHISTERECTOMIA

ALESSANDRA KOZELINSKI<sup>1,2\*</sup>, BIANCA DE FÁTIMA DALLO<sup>3</sup>, FABIOLA DALMOLIN<sup>4</sup>, LUCIANA PEREIRA MACHADO<sup>4</sup>, GABRIELLE COELHO FREITAS<sup>2,5</sup>

## 1 Introdução

A piometra é uma enfermidade que ocasiona inflamação e acúmulo de exsudato na luz uterina de cadelas e gatas. O melhor tratamento é a ovariectomia (OVH), cirurgia que cursa com nível de dor moderado, e que na maioria das vezes faz-se o controle analgésico com uso de opioides. Entretanto, além dos efeitos analgésicos, os opioides apresentam vários efeitos indesejados, incluindo a imunomodulação, que afeta as respostas da imunidade inata e adquirida, alterando a resistência a vários agentes infecciosos (SACERDOTE, 2006).

Os neutrófilos são a primeira linha de defesa do organismo, compondo a imunidade inata e fagocitando e destruindo microrganismos invasores. Uma forma de determinar a ativação do metabolismo oxidativo dos neutrófilos é pelo teste de redução do Sal Nitroblue Tetrazolium (NBT - Amresco<sup>®</sup>) e a inibição desse metabolismo é reconhecidamente um importante mecanismo imunossupressor que propicia infecções, inclusive por agentes pouco patogênicos (CIARLINI et al., 2004).

## 2 Objetivos

Avaliar os efeitos do opioide morfina sobre a função fagocítica e oxidativa de neutrófilos de cadelas hígidas e de cadelas com piometra, submetidas ao procedimento cirúrgico de ovariectomia, por meio dos testes de redução do Sal Nitroblue Tetrazolium (NBT) e do Teste Zymosan<sup>®</sup> (estimulação pela adição de um liofilizado de *Saccharomyces cerevisiae*).

1 Acadêmica de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Realeza/PR, Bolsista IC/ Fundação Araucária, contato: alessandrakozelinski@gmail.com

2 Grupo de Pesquisa: Anestesiologia Animal

3 Acadêmica de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Realeza/PR

4 Docente de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Realeza/PR.

5 Docente de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Realeza/PR.  
**Orientadora.**



### 3 Metodologia

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) sob parecer CR46/CEUA/UFGS/2018. Foram selecionadas 14 fêmeas caninas, adultas, com e sem raça definida, peso médio de 10,6 kg e idade média de 5,7 anos, que foram alocadas em 2 grupos: Controle e Piometra. No Controle foram alocadas aleatoriamente 8 animais sem alterações clínicas e no Piometra foram alocados 6 animais diagnosticadas com piometra. Ambos os grupos foram submetidos a exames clínicos, laboratoriais e de imagem e a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido pelos tutores. Após jejum alimentar de 8 horas e hídrico de 2 horas, as cadelas foram encaminhadas para a cirurgia de ovariectomia (OVH). Antes da administração da medicação pré-anestésica (MPA), foi coletado 6 mL de sangue da veia jugular, armazenados 2 mL em tubo com EDTA (ácido etileno diaminotetracético) e 4 mL em tubo heparinizado. A MPA, para ambos os grupos, consistiu de 0,4 mg/kg de morfina, por via intramuscular, e após 30 minutos, os animais foram induzidos à anestesia geral com propofol (4mg/kg, via IV), mantidos em anestesia inalatória com isoflurano em vaporizador calibrado e diluído em oxigênio a 100%.

Além da coleta de sangue realizada antes da MPA (basal), também se realizou as coletas nos tempos 6, 12, 24, 96 horas, 10 dias e 30 dias após a administração da MPA, para avaliação do metabolismo oxidativo e fagocítico dos neutrófilos, através da realização do Teste NBT, Teste Zymosan® (Sigma Alderich) pela estimulação com *Saccharomyces cerevisiae* e realização do hemograma e contagem diferencial de leucócitos. Os resultados foram analisados com o auxílio do programa estatístico computadorizado GraphPad Prism 8.01. Os resultados foram apresentados como média  $\pm$  desvio padrão e diferenças foram consideradas significativas quando  $P < 0,05$ .

### 4 Resultados e Discussão

Na avaliação do número de neutrófilos com metabolismo oxidativo basal, metabolismo oxidativo estimulado e de neutrófilos com função fagocítica estimulados (Tabela 1), no Controle, observou-se redução nos valores médios das observações em todos os tempos, com relação aos valores do T0. Apenas às 24 horas, no metabolismo basal, que ocorreu um aumento, sendo observado um valor superior ao encontrado no Tempo 0. Nos animais do Piometra, que apresentam condição clínica diferenciada, os valores apresentados nos tempos subsequentes diferiram bastante aos valores encontrados no Tempo 0. Entretanto,



dos 6 animais do Grupo Piometra, apenas 2 animais realizaram o acompanhamento até os 30 dias após a OVH. Nos tempos 6, 12 e 24 horas teve a participação de 3 animais; e nos tempos 96 horas, 10 dias e 30 dias, de apenas 2 animais.

Em cães, as informações dos efeitos imunomoduladores dos opioides são limitadas. Mobini et al. (2015) pesquisaram os efeitos da morfina e buprenorfina em cães saudáveis e não observaram alterações significativas nas respostas imunes. Já estudos realizados em cobaias e em humanos apontaram após o uso de opioides, que tanto a imunidade inata quanto a adquirida são afetadas, o que ocasiona alterações nas respostas imunes celular e humoral (SACERDOTE, 2006). Entretanto, os animais com piometra estão em uma condição clínica diferenciada, e já apresentam alterações no seu sistema imune devido a sepse que a maioria desenvolve. Por isso, as repostas imunes podem diferir quando comparadas a indivíduos saudáveis.

## 5 Conclusão

A administração do opioide morfina em ambos os grupos provocou redução do metabolismo oxidativo e fagocítico dos neutrófilos, quando comparados aos valores basais. Entretanto, devido a elevada variabilidade entre os indivíduos diagnosticados com piometra, novas pesquisas são necessárias para o estabelecimento de valores de referência para a função oxidativa e fagocítica de neutrófilos em pacientes acometidos com piometra.

**Tabela 1.** Neutrófilos (%) com metabolismo oxidativo basal, metabolismo oxidativo estimulado e com função fagocítica estimulado em cadelas híginas (Controle) ou diagnosticadas com Piometra, submetidas à ovariectomia. Valores dispostos em média  $\pm$  desvio padrão.

Grupo	Neutrófilos (%)	Tempo 0	6 h	12 h	24h	96 h	10 dias	30 dias
Controle	Metabolismo Oxidativo Basal	22,6 $\pm$ 10	15,25 $\pm$ 12,3	12,5 $\pm$ 10,15	31,1 $\pm$ 12,6	22 $\pm$ 10,2	21,25 $\pm$ 21,9	20,25 $\pm$ 10,9
	Metabolismo Oxidativo Estimulado	77,25 $\pm$ 23,8	51,12 $\pm$ 26,9	28 $\pm$ 21,5	67,6 $\pm$ 21,5	61,75 $\pm$ 30,9	73,1 $\pm$ 22,9	75,3 $\pm$ 12,4
	Função Fagocítica Estimulado	82,7 $\pm$ 21,4	59,12 $\pm$ 28,4	32,6 $\pm$ 30,8	70,8 $\pm$ 26,5	64,8 $\pm$ 35,4	78,75 $\pm$ 24,4	76,3 $\pm$ 13
Piometra	Metabolismo Oxidativo Basal	29,1 $\pm$ 18,6	5,3 $\pm$ 2,8	7,3 $\pm$ 12,7	9,3 $\pm$ 9,5	22,5 $\pm$ 16,2	14 $\pm$ 4,2	12,5 $\pm$ 4,9
	Metabolismo Oxidativo Estimulado	66 $\pm$ 26	23 $\pm$ 11,2	38,6 $\pm$ 35,1	20,3 $\pm$ 18,8	32,5 $\pm$ 13,4	33,5 $\pm$ 17,6	51,5 $\pm$ 45,9
	Função Fagocítica Estimulado	73,3 $\pm$ 22,5	29 $\pm$ 23	46 $\pm$ 40,7	25,3 $\pm$ 16	37,5 $\pm$ 13,4	36,5 $\pm$ 12	52,5 $\pm$ 43,1

Fonte: Elaborada pela autora



**Palavras-chave:** Anestesiologia; Analgesia; Opioides; Imunomodulação; Bem-estar animal.

### **Financiamento**

Auxílio da Fundação Araucária (Edital nº 320/GR/UFFS/2019), por meio de bolsa de iniciação científica, Projeto PES-2019-0251

### **Referências**

CIARLINI, P. C. et al. Efeito da vacina polivalente sobre o leucograma e o metabolismo oxidativo dos neutrófilos em cães. **Arquivo Instituto Biológico**, Brasil, v. 71, n. 3, p. 323-327, 2004.

MONIBI, Farrah A, et al..Morphine and buprenorphine do not alter leukocyte cytokine production capacity, early apoptosis, or neutrophil phagocytic function in healthy dogs. **Research In Veterinary Science**. Columbia (USA), p. 1-7. 16 jan. 2015.

SACERDOTE, P. Opioids and the immune system. **Edward Arnold Publishers**, Milan, Italy, v. 9, n. 20, p. 9-15, 2006.