

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**GRAPIPRANT E CARPROFENO NO PÓS-OPERATÓRIO DE GATAS
SUBMETIDAS À
OVARIOHISTERECTOMIA ELETIVA: AVALIAÇÃO ANALGÉSICA,
HEMATOLÓGICA, BIOQUÍMICA E URINÁLISE**

Luciana Gonçalves Teixeira

Porto Alegre

2022

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

Grapirant e carprofeno no pós-operatório de gatas submetidas à ovariectomia eletiva: avaliação analgésica, hematológica, bioquímica e urinálise

Autora: Luciana Gonçalves Teixeira

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção do título de doutora em Ciências Veterinárias

Orientador: Emerson Antonio Contesini

Porto Alegre

2022

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001

CIP - Catalogação na Publicação

Teixeira, Luciana Gonçalves
GRAPIPRANT E CARPROFENO NO PÓS-OPERATÓRIO DE GATAS
SUBMETIDAS À OVARIOHISTERECTOMIA ELETIVA: AVALIAÇÃO
ANALGÉSICA, HEMATOLÓGICA, BIOQUÍMICA E URINÁLISE /
Luciana Gonçalves Teixeira. -- 2022.

66 f.

Orientador: Emerson Antonio Contesini.

Coorientador: André Vasconcelos Soares.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, BR-RS, 2022.

1. Carprofeno. 2. Cirurgia. 3. Felino. 4. Grapiprant. 5. Receptor EP4. I. Contesini, Emerson Antonio, orient. II. Soares, André Vasconcelos, coorient. III. Título.

Luciana Gonçalves Teixeira

GRAPIPRANT E CARPROFENO NO PÓS-OPERATÓRIO DE GATAS SUBMETIDAS À
OVARIOHISTERECTOMIA ELETIVA: AVALIAÇÃO ANALGÉSICA,
HEMATOLÓGICA, BIOQUÍMICA E URINÁLISE

Aprovada em Porto Alegre, 28 de fevereiro de 2022.

APROVADA POR:

Prof. Dr. Eduardo Raposo Monteiro
Orientador e Presidente da Comissão

Profa. Dra. Gabrielle Coelho Freitas
Membro da Comissão

Profa. Dr. Martielo Ivan Gehrcke
Membro da Comissão

Profa. Dr. Nilson Oleskovicz
Membro da Comissão

Para Vinícius

Agradecimentos

Este trabalho encerra não somente quatro anos de doutorado, mas 15 anos ininterruptos de envolvimento em alguma pesquisa, primeiro dos outros e depois as de minha autoria. Agradecer a todas as pessoas incríveis que já cruzaram o meu caminho na vida acadêmica daria, em tamanho, uma outra tese e, por essa razão, me limitarei a agradecer àqueles que estiveram presentes nesses últimos quatro anos.

À Paula, Charline, Gabriela e Jean, por chegarem à universidade às 5h30 da manhã de segundas-feiras congelantes por meses, pelas horas sem dormir, pelas bergamotas de janta, pela camaradagem em meio ao caos. Vocês são amigos e todos os agradecimentos serão sempre pouco!

À Julia, por facilitar a minha vida de um jeito que nem sei precisar...

À Emanuelle e Daniel, pelo coleguismo sempre e pelas histórias!

À Letícia, por ter me emprestado o quarto dela e a família toda e por sempre discutirmos nos momentos de dúvida e rirmos de qualquer circunstância.

À Nathália, por todas as conversas muito sérias e também bestas, apoio e amizade incondicionais ao longo de todos esses quatro anos.

À Jéssica e à Simone Bianchi, por podermos contar uma com a outra e nos tornarmos amigas.

Ao José, Manuel, Ruivo e Diane, por ter aprendido muito e me divertido com vocês!

Ao Diego Tristão por sempre ter questionado tudo, mas nunca em demasia, pelas “aulas” de estatística de madrugada e por estar sempre junto não importando a distância.

Ao professor Emerson por ter me aceitado, comprado as tantas ideias que surgiram nesses quatro anos, por ter compartilhado um pouco da sua história e pelos chás da tarde em sua sala. Cada conversa daquelas foi importante e espero que logo possamos fazer o mesmo.

Ao professor André, que aceitou a coorientação mesmo à distância e garantiu que eu pudesse executar este projeto, te agradeço pela amizade ao longo desses seis anos.

Ao professor Eduardo Monteiro por ter me acolhido entre os seus alunos desde o início do doutorado, mas principalmente nesses últimos meses; por ter me desafiado nas disciplinas e fora delas e, assim, me ajudado a ser uma profissional melhor.

À Andressa, Elisa, Carolina, Bianca Nicole, Rajla, Bruna e Vanessa por estarem presentes em todos os momentos, não importando de que parte deste globo.

À minha família por sempre me lembrar que a vida acontece, não importa o quê.

À Turquesa, Nala, Iangue, Pretinha, Daphini, Polenta, Mima, Frajolinha, Amora, Meg, Maria, Tina, Málika, Bolinho, Cindy, Melanie, Nega, Pitty, Alexa, Melissa, Mirtes, Flora, Zoe, Lilith, Mina, Meivi, Lolô, Princesa, Xaniqüa, Frida, Nick, Tempestade pela paciência que tiveram conosco. O carinho e a sem-vergonhice de cada uma de vocês amenizou as dificuldades e os desafios que tivemos pelo caminho.

So understand

*Don't waste your time always searching for those
wasted years*

Face up, make your stand

Realize you're living in the golden years

Wasted years, Iron Maiden

RESUMO

GRAPIPRANT E CARPROFENO NO PÓS-OPERATÓRIO DE GATAS SUBMETIDAS À OVARIOHISTERECTOMIA ELETIVA: AVALIAÇÃO ANALGÉSICA, HEMATOLÓGICA, BIOQUÍMICA E URINÁLISE

Autor: Luciana Gonçalves Teixeira

Orientador: Emerson Antonio Contesini

Co-orientador: André Vasconcelos Soares

O grapiprant é um antagonista específico do receptor da prostaglandina E2, EP4, que demonstrou reduzir a dor e inflamação em roedores. Este estudo teve como objetivo comparar o efeito analgésico entre carprofeno em dose única e grapiprant a cada 12 ou 24 horas sobre a dor pós-operatória em gatos submetidos à ovariectomia, além dos efeitos nos parâmetros hematológico, bioquímico e urinálise. Trinta e duas gatas foram divididas aleatoriamente em três grupos, de acordo com o tratamento administrado via oral duas horas antes da extubação: CAR (gatas receberam 4 mg/kg de carprofeno, n = 11), GRA1 (gatas receberam 2 mg/kg grapiprant, n = 10) e GRA2 (gatas receberam 2 mg/kg de grapiprant q12h, n = 11). A dor foi avaliada pelas escalas de dor multidimensionais UNESP e Composta de Glasgow para dor em gatos previamente à administração das medicações (basal) e em 1, 3, 6, 8, 12 e 24 horas após a extubação. O sangue venoso foi coletado no basal, 12 e 24 horas após a administração do CAR ou GRA para hemograma completo, porcentagem de corpos Heinz (HB) e bioquímica sérica (ALT, AST, GGT, ALP, creatinina e ureia). A urinálise foi realizada no basal e 24h. A glicemia foi avaliada no basal e em 1h do pós-operatório. Os escores de dor não diferiram entre os grupos em ambas as escalas, embora a dor tenha sido maior em 3h em comparação com 24h em todos os grupos. Nos grupos tratados com grapiprant, 67% (14/21) das gatas precisaram de analgesia de resgate em comparação com 18% (2/11) no CAR. A glicose aumentou do basal para 1h nos grupos GRA. Nenhum dos parâmetros hematológicos, bioquímicos e urinálise diferiu entre os grupos. Grapiprant não promoveu analgesia pós-operatória adequada em gatas submetidos à ovariectomia em comparação com o carprofeno, e nenhum benefício foi observado com a administração de grapiprant a cada 12 horas.

Palavras-chave: Carprofeno. Cirurgia. Felino. Grapiprant. Receptor EP4

ABSTRACT

GRAPIPRANT AND CARPROFEN IN THE POST-OPERATIVE OF CATS UNDERGOING ELECTIVE OVARIOHYSTERECTOMY: ANALGESIC, HEMATOLOGICAL, BIOCHEMICAL AND URINALYSIS EVALUATION

Author: Luciana Gonçalves Teixeira

Advisor: Emerson Antonio Contesini

Co-adviser: André Vasconcelos Soares

Grapiprant is a specific antagonist of the prostaglandin E2 EP4 receptor, shown to reduce pain in rodent models. This study aimed to compare the analgesic effect between a single-dose of carprofen and grapiprant single-dose or q24h on postoperative pain in cats undergoing ovariohysterectomy, in addition to the effects on the hematological, biochemical, and urinalysis parameters. Thirty-two female cats were randomly divided into three groups, according to the treatment administered orally two hours before extubation: CAR (cats received 4 mg/kg carprofen, n = 11), GRA1 (cats received 2 mg/kg grapiprant, n = 10), and GRA2 (cats received 2 mg/kg grapiprant q12h, n = 11). Pain was assessed by multidimensional UNESP and Glasgow pain scales for cats preoperatively (baseline) and at 1, 3, 6, 8, 12, and 24 h after extubation. Venous blood was collected at baseline, 12 and 24 h after the administration of CAR or GRA to perform a complete blood count (CBC), the percentage of Heinz bodies (HB), and serum biochemistry (ALT, AST, GGT, ALP, creatinine, and urea). Urinalysis was performed at baseline and 24h. Glucose levels were evaluated at baseline and 1h postoperatively. Pain scores were not different among groups in both scales, although pain was higher at 3h in comparison to 24h in all groups. In GRA-treated groups, 67% (14/21) of cats needed rescue analgesia compared to 18% (2/11) in CAR. Glucose increased from baseline to 1h in GRA-treated groups. None of the CBC, serum biochemistry, and urinalysis parameters differed among groups. Grapiprant did not promote adequate postoperative analgesia in cats undergoing ovariohysterectomy compared to carprofen, and no benefits were observed by administering grapiprant every 12 hours.

Keywords: *Carprofen. EP4 receptor. Feline. Grapiprant. Surgery*

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
2	REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1	O processo inflamatório	17
2.2	Anti-inflamatórios não esteroidais	18
2.2.1	Efeitos adversos decorrente da administração de AINEs	19
2.2.2	Carprofeno	21
2.2.3	Grapiprant	23
2.3	Dor e avaliação de analgesia em gatos.....	27
3	OBJETIVOS.....	29
4	MATERIAL E MÉTODOS, RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
5	ARTIGO	31
5.1	Abstract	32
5.2	Introduction.....	33
5.3	Material and Methods	34
5.3.1	Animal Selection	34
5.3.2	Study protocol.....	35
5.3.3	Pain evaluation.....	35
5.3.4	Sample collection.....	36
5.3.5	Statistical analysis.....	37
5.4	Results.....	38
5.4.1	Analgesia assessment.....	40
5.4.2	Hematological, biochemical, and urinalysis assessments.....	43
5.5	Discussion	46
5.6	Conclusions	49
5.7	Conflict of interest statement	49
5.8	Acknowledgments.....	49
5.9	References	50
6	Conclusão	56

7	Referências	57
	ANEXO A – Escala Multidimensional da Unesp-Botucatu para Avaliação de Dor Aguda Pós-Operatória em Gatos (EUNESP)	63
	ANEXO B – Escala Composta de Glasgow Adaptada para Felinos (EGLASGOW).....	65
	ANEXO C	67

LISTA DE FIGURAS

Figure 1 – Timeline of the study design.	37
Figure 2 – Pain scores on the (a) UNESP Multidimensional Acute Pain Scale for Cats and (b) the Glasgow Feline Composite Measure Pain Scale for Cats	41
Figure 3 – Survival curve for rescue analgesia.....	42

LISTA DE TABELAS

Table 1 – Age and weight of the cats included in the study	39
Table 2 – Data regarding time between carprofen/ grapiprant administration and extubation (C/G – E) and duration of anesthesia and surgery	39
Table 3 – Remifentanil constant rate infusion in CAR or GRA	39
Table 4 – Sedation scores for CAR and GRA assessed by a simple sedation score (0 – 3)....	40
Table 5 – Hematological parameters over time	43
Table 6 – Urinalysis data regarding treatment and time point of evaluation.....	44
Table 7 – Data regarding treatment and time point of evaluation.	44

1 INTRODUÇÃO

Os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) são amplamente utilizados na rotina veterinária. Esses fármacos são, de maneira geral, metabolizados pelo fígado, onde são biotransformados a partir dos processos de glicuronidação e oxidação para, posteriormente, serem eliminados de forma inativa na urina. O carprofeno é um exemplo de AINE administrado rotineiramente na rotina clínica, principalmente no pós-operatório para conforto analgésico (MONTEIRO; STEAGALL, 2019).

Além de ação anti-inflamatória, antipirética e analgésica, o uso de AINEs é também associado a efeitos adversos, como o sangramento de mucosa gástrica e a lesão renal aguda. Estes efeitos são induzidos pela inibição das enzimas cicloxigenases (COX), moléculas alvo dos AINEs (MONTEIRO-STEAGALL; STEAGALL; LASCELLES, 2013) e, por essa razão, tendem a ser contraindicados em pacientes renais, hepáticos, entre outras afecções.

Os felinos, particularmente, têm dificuldade em metabolizar esses fármacos por apresentarem menor concentração de NAT2 (enzima polimórfica N-acetiltransferase) e ausência de algumas enzimas do complexo citocromo P450 (CYP) responsáveis pela biotransformação e glicuronidação de xenobióticos, além de possuírem um número maior de grupamentos sulfidrilas que os demais mamíferos, tornando suas células mais instáveis e suscetíveis à oxidação quando expostas a metabólitos por tempo prolongado. Em decorrência, pode ocorrer desnaturação proteica da membrana celular dos eritrócitos, que é evidenciada pela formação de corpúsculos de Heinz e subsequente hemólise. Sendo assim, a administração de AINEs pode ter efeitos deletérios tanto aos eritrócitos, como às funções hepática e renal devido à potencial dificuldade de metabolização e à inibição das COX 1 e 2 no tecido renal. Por essa razão, o uso de outros fármacos que atuem como anti-inflamatórios e que não ofereçam os mesmos riscos é benéfico.

O grapiprant é um fármaco recente, ainda pouco utilizado na rotina clínica, e que está indicado apenas para o tratamento da dor crônica em decorrência da osteoartrite em cães. A ação do grapiprant, diferente dos demais AINEs, se dá não pela inibição da síntese de prostaglandina E2, que é um dos principais mediadores dos processos álgico e inflamatório, mas sim pelo bloqueio de seu receptor específico, EP4 (KIRKBY SHAW; RAUSCH-DERRA; RHODES, 2016a). Ainda, estudos recentes na espécie felina sugerem que o grapiprant depende pouco dos sistemas hepático e renal para sua metabolização (LEBKOWSKA-WIERUSZEWSKA et al., 2017).

Em relação ao efeito analgésico desses fármacos, já foi demonstrado que o carprofeno proporciona analgesia adequada para o pós-operatório imediato de ovariectomia em gatas, a partir do uso de métodos não validados para a espécie, como a Escala Visual Analógica. Porém, o efeito analgésico do grapiprant para dor aguda, especialmente a cirúrgica, não foi avaliado em felinos ou mesmo em cães.

A partir do exposto, este estudo pretende avaliar e comparar o efeito da administração de grapiprant ou carprofeno sobre a dor pós-operatória, além dos efeitos sobre os perfis hematológico e bioquímico em gatas submetidas à ovariectomia eletiva (OVH).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O processo inflamatório

A inflamação aguda é uma resposta protetora complexa e uma sequência de eventos altamente coordenada envolvendo células do sistema imune, vasos sanguíneos e mediadores moleculares com o fim de eliminar a causa inicial de lesão celular e iniciar a reparação tecidual (FULLERTON; GILROY, 2016; JI; CHAMESSIAN; ZHANG, 2016).

Quando ocorre um dano tecidual, como por exemplo a incisão cirúrgica, diferentes mediadores químicos são liberados pelas células imunes residentes no tecido lesionado, resultando em uma “sopa inflamatória” (SCHOLZ; WOOLF, 2002). Esses mediadores solúveis incluem quimiocinas, citocinas, aminas vasoativas, leucotrienos e prostaglandinas que culminam com o influxo de leucócitos polimorfonucleares (PMNs) para estes tecidos (MASTROMARINO et al., 2020). Enquanto alguns desses mediadores inflamatórios ativam os nociceptores diretamente causando dor, outros atuam conjuntamente para sensibilizar o sistema nervoso somatossensorial, permitindo uma ativação mais fácil da via da dor até a cicatrização do tecido (SCHOLZ; WOOLF, 2002).

Na dor inflamatória, mediadores como bradicinina ou prostaglandinas se ligam a receptores acoplados à proteína G. Esta ligação induz a ativação de proteínas quinases A e C nos nociceptores, levando à fosforilação de receptores e canais iônicos, como o receptor de potencial transitório vaniloide 1 (TRPV1). O resultado é a diminuição do limiar de ativação de receptores transdutores, como o TRPV1, e o aumento na excitabilidade de membrana, gerando um estado de sensibilidade elevada, denominado sensibilização periférica (JI; CHAMESSIAN; ZHANG, 2016; SCHOLZ; WOOLF, 2002). A dor nesta fase da resposta inflamatória pode ser combatida com o uso de anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), opioides ou outros fármacos que bloqueiem as ações dos mediadores anti-inflamatórios (MASTROMARINO et al., 2020; SCHOLZ; WOOLF, 2002).

A resolução do processo inflamatório ocorre com a remoção dos PMNs da área tecidual afetada e com a restauração da homeostasia, o que acontece seguindo uma rígida cascata de eventos, envolvendo a suspensão da síntese de mediadores pró-inflamatórios e a destruição dos existentes, cessamento do recrutamento de leucócitos e da formação de edema. Cada um dos processos envolvidos é controlado por vários mecanismos, que incluem a ligação com receptores de superfície celular e mediadores humorais (FULLERTON; GILROY, 2016).

O processo de resolução inicia com a síntese de mediadores especializados pró-resolutivos (SPMs) pelas mesmas células que iniciam a inflamação. Ainda, na fase resolutiva,

essas células modificam o metabolismo do ácido araquidônico para a produção de lipoxinas. Os SPMs atuam a partir da ativação de receptores acoplados à proteína G específicos, como FPR2, GPR32, GPR18. A produção de SPMs é tempo-dependente, enquanto a ativação dos receptores específicos é dependente do tempo e do tipo celular. A ativação desses receptores, promove modificações em favor da produção de mediadores anti-inflamatórios, como IL-10 (MASTROMARINO et al., 2020). A desregulação do processo de resolução da inflamação, acompanhada de um processo inflamatório em curso podem ser as causas de base de doenças associadas à dor crônica.

2.2 Anti-inflamatórios não esteroidais

A preocupação dos médicos veterinários com o controle da dor em pequenos animais é crescente. Este interesse tem aumentado o número de pesquisas envolvendo tanto opioides como AINEs, os quais são os principais fármacos utilizados no controle da dor.

Os AINEs têm efeitos anti-inflamatório, antipirético e analgésico, e agem inibindo reversivelmente as enzimas cicloxigenases (COX), responsáveis pela produção de mediadores inflamatórios como as prostaglandinas, além de tromboxana A₂, a partir do ácido araquidônico.

Após lesão tecidual ou liberação de mediadores inflamatórios, o ácido araquidônico é formado em decorrência da ação da enzima fosfolipase sobre os lipídeos da membrana celular. Após formado, o ácido araquidônico interage com as enzimas lipoxigenase ou COX, resultando na produção de leucotrienos e prostaglandinas (BERGH; BUDSBERG, 2005). Ambos participam do processo inflamatório, porém as prostaglandinas têm um papel mais amplo, contribuindo também para a homeostasia. A prostaglandina E₂ (PGE₂), em especial, está envolvida na regulação dos sistemas imune, reprodutivo, neurológico e metabólico, além da formação e cicatrização óssea, regulação da temperatura e resposta vasomotora (BACCHI et al., 2012; BERGH; BUDSBERG, 2005).

No processo inflamatório, as prostaglandinas aumentam o fluxo sanguíneo para a região lesionada após causarem vasodilatação das arteríolas, além de aumentarem a permeabilidade capilar às proteínas plasmáticas, tanto por ação direta como por sinergismo com histamina e bradicinina. Além disso, as prostaglandinas amplificam o estímulo nociceptivo produzido por outros mediadores, como a própria histamina e bradicinina, as quais induzem dor por estimularem nociceptores, e, dessa forma, geram hiperalgesia (LEES et al., 2004).

As COX são expressas principalmente em duas isoformas, COX-1 e COX-2, ubiquamente expressas nos diversos tecidos. Ambas consistem em um canal hidrofóbico com uma estrutura em forma de grampo. As COX contêm aproximadamente 600 aminoácidos,

compartilhando 60% deles e uma única alteração de aminoácido no canal hidrofóbico permite a inibição seletiva de COX-1 ou COX-2. Enquanto a COX-2 apresenta um gene precoce que permite rápida expressão desta enzima em resposta a um estímulo, à COX-1 falta este gene (BERGH; BUDSBERG, 2005). Por essa razão, acreditava-se que enquanto a COX-1 era enzima constitutiva de vários tecidos e necessária para o funcionamento do organismo, a COX-2 era desprovida desta função, sendo apenas regulada para cima em caso de doença ou inflamação, sendo um ponto importante no controle da dor e inflamação (CLARK-PRICE, 2013).

Por essa razão, foram desenvolvidos AINEs capazes de inibir somente a COX-2, a fim de minimizar os efeitos adversos decorrentes do bloqueio de COX-1. Assim, com base em ensaios tanto *in vitro* como *in vivo* avaliando a razão de inibição da COX-2 sobre a COX-1, os AINEs são classificados como não seletivos, preferenciais ou seletivos para COX-2 (CLARK-PRICE, 2013). Este cálculo é determinado dividindo a concentração de um medicamento que inibirá a enzima COX-1 por uma determinada quantidade (geralmente 50%, o IC50) pela concentração de um fármaco capaz de inibir a enzima COX-2 por uma quantidade semelhante. Quanto maior o valor desta razão, maior a seletividade para COX-2 (DUNCAN et al., 2005). Dessa forma, AINEs cuja razão é <1 são classificados como seletivos para COX-1; $> 1 - 100$ são classificados como preferenciais para COX-2, e quando a razão for $> 100 - 1000$, são seletivos para COX-2 (CLARK-PRICE, 2013). Fármacos bastante utilizados em felinos como meloxicam e carprofeno são classificados como não-seletivo e preferencial para COX-2 de acordo com a razão COX-2:COX-1 de 3,5 e 28, respectivamente, nesta espécie (GIRAUDEL; TOUTAIN; LEES, 2005).

Apesar de menos efeitos deletérios serem esperados com o uso de inibidores COX-2-seletivos no trato gastrointestinal, uma vez que COX-2 também é enzima constitutiva em outros tecidos, é possível que esses fármacos possam atrasar a cicatrização de feridas e fraturas, além de causar efeitos adversos na função renal. Dessa forma, tanto COX-1 quanto COX-2 geram prostaglandinas nos locais de inflamação (LEES et al., 2004).

2.2.1 Efeitos adversos decorrente da administração de AINEs

O índice terapêutico da maioria dos AINEs é estreito. Além disso, esses fármacos exercem diversos efeitos no organismo, influenciando a função celular e o metabolismo nos mais diferentes tecidos. Os sistemas gastrointestinal, renal e hepático são os mais afetados pela toxicidade causada por AINEs, embora a cicatrização óssea e a coagulação também possam ser alteradas com a administração desses medicamentos (LASCELLES et al., 2007). Contudo, Hunt et al. (2015) identificaram que, no Reino Unido, os efeitos adversos mais relatados em

cães e gatos foram êmese e letargia, tendo sido significativamente mais observados com o uso de inibidores seletivos de COX-2 do que com o uso de AINEs não seletivos. Lesão renal foi pouco reportada e não foi associada à administração de AINEs.

O metabolismo e transporte de um fármaco no organismo determinam a exposição celular a esses agentes, sendo determinantes na toxicidade associada à sua administração. A maioria dos AINEs, incluindo o carprofeno, são eliminados a partir do metabolismo hepático – envolvendo principalmente a glicuronidação –, seguida pela excreção dos metabólitos polares pela via biliar e/ou renal. Boa parte dos efeitos tóxicos dos AINEs são justamente verificados nestes tecidos (NIU et al., 2014).

No trato gastrointestinal, a inibição de COX-1 é considerada a causa da redução da secreção de bicarbonato e da formação de muco, e de levar à ulceração e perfuração gástrica. Foi demonstrado que, em ratos, a ulceração gástrica aumenta a expressão de COX-2 e que o uso de AINEs COX-2 seletivos atrasam ou impedem a cicatrização das úlceras (LASCELLES et al., 2007). O uso de AINEs não seletivos, parece atuar sobre esse tecido de modo dose-dependente, reduzindo a concentração de ATP (adenosina trifosfato) e, assim, induzindo ao estresse eletrófilo a partir da glicuronidação de seus metabólitos e à lesão mitocondrial. Além disso, a indução de estresse oxidativo e consequente apoptose celular já foi identificada como causa de lesão no trato gastrointestinal em decorrência da exposição a AINEs (NIU et al., 2014).

Já os rins expressam tanto COX-1 quanto COX-2. A COX-2 é constitutivamente expressa no rim normal e as prostaglandinas sintetizadas a partir dessa enzima tem papel na fisiologia renal, assim como as produzidas por COX-1. As prostaglandinas induzidas por ambas as COX são necessárias para a manutenção de um fluxo renal adequado quando há hipotensão e baixa perfusão renal. Nessa situação, as prostaglandinas promovem vasodilatação que contrapõe a ação vasoconstritora da angiotensina II e norepinefrina. Assim, em condições de hipovolemia e hipotensão, o uso de AINEs pode alterar a capacidade auto regulatória renal por inibir a ação das COX e, conseqüentemente, a produção de prostaglandinas, levando à falha renal aguda e morte celular (LOMAS; GRAUER, 2015). Porém, as duas isoformas de COX não são expressas uniformemente no tecido renal, e a expressão basal de cada uma também é diferente tanto em localização neste tecido, como entre as espécies, sendo desconhecidos os padrões de distribuição e expressão de COX-1 e 2 no tecido renal de gatos (LASCELLES et al., 2007). Em humanos, o uso perioperatório de AINEs reduziu a depuração de creatinina, tendo o mesmo sido observado em cães recebendo meloxicam ou carprofeno no período pré-operatório. Aparentemente, em ambos os casos os efeitos dos AINEs sobre a função renal não

foram clinicamente relevantes e não alteraram a taxa de filtração glomerular (FORSYTH; GUILFORD; PFEIFFER, 2000).

O uso de AINEs em felinos, contudo, é ainda limitado em relação a administração em cães devido à falta de informação sobre o uso de AINEs naquela espécie e, também, ao risco mais elevado de toxicidade associado a esses fármacos nos gatos dadas as peculiaridades metabólicas destes animais (LASCELLES et al., 2007).

O receio de um efeito tóxico ocasionado pela administração de AINEs se deve a menor capacidade de glicuronidação hepática nos gatos, que é a principal via de metabolização e excreção dessa classe farmacológica (COURT, 2014). Gatos não expressam duas das isoformas da enzima uridina difosfato glucuronosiltransferase – UGT1A6 e UGT1A9 –, principal catalisadora da glicuronidação, assim como são deficientes em várias outras enzimas responsáveis pela conjugação dos metabólitos, como N-acetiltransferase (NAT2) e tiopurina metiltransferase (TMPT), possivelmente envolvidas no desenvolvimento de metahemoglobinemia. Assim, espera-se um aumento no tempo de excreção desses fármacos e uma potencial exposição dos eritrócitos desses animais à ação de metabólitos capazes de induzir a lesões oxidativas nessas células (COURT, 2014). Soma-se a isso a menor atividade de isoenzimas do citocromo P450 (CYP) de gatos em relação a outras espécies e a incapacidade dos felinos em metabolizar adequadamente alguns fármacos, como a morfina (VAN BEUSEKOM; FINK-GREMMELS; SCHRICKX, 2014), uma vez que as CYPs são as principais enzimas envolvidas em inúmeras reações oxidativas e frequentemente desempenham um papel crítico no metabolismo e na farmacocinética dos xenobióticos.

Além disso, um fator importante para o desencadeamento dessas lesões oxidativas é a peculiaridade dos eritrócitos dos felinos apresentarem oito grupos sulfidrila, sendo seis a mais do que os demais mamíferos, tornando suas células mais instáveis e suscetíveis à oxidação. A desnaturação proteica da membrana celular dos eritrócitos decorrente deste processo é evidenciada pela formação de corpúsculos de Heinz com subsequente hemólise (HARVEY et al., 2008).

2.2.2 Carprofeno

O carprofeno é um AINE que consiste em uma mistura racêmica dos dois enantiômeros *R* (-) e *S* (+) na taxa de 1:1, sendo *S* (+) considerado o mais ativo de ambos e o mais relevante para a inibição de COX (TAYLOR et al., 1996). O carprofeno é altamente ligado às proteínas plasmáticas e o mecanismo para sua eliminação é dependente de glicuronidação e oxidação (MCLEAN; KHAN, 2018).

Este fármaco é descrito na literatura como um inibidor preferencial de COX-2 em gatos, resultado obtido a partir da análise *in vitro* dos efeitos deste AINE em sangue total (LASCELLES et al., 2007; TAYLOR et al., 1996). Porém, GIRAUDEL et al. (2005) identificaram que, apesar de *S* (+) carprofeno ter realmente alta seletividade para COX-2 em gatos, sendo duas vezes mais seletivo para COX-2 em gatos do que cães, esta seletividade é perdida quando utilizado nas doses usuais de 4 mg/kg. Essa dose, apesar de inibir COX-2 em 100%, também causa a inibição de aproximadamente 44% de COX-1, de modo que seu máximo efeito terapêutico pode ser acompanhado de efeitos adversos decorrentes do bloqueio desta última COX.

Parton et al. (2000) demonstraram que a meia-vida do carprofeno é de $20,1 \pm 16,6$ horas, sendo aproximadamente 2 a 3 vezes maior do que no cão. De acordo com este estudo, o carprofeno não induziu qualquer alteração nos valores de hematócrito, alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (FA) ou ureia até três dias após a administração em comparação a uma mensuração basal. Além disso, nenhuma lesão ou sangramento em mucosa gástrica foi verificado em endoscopia realizada 8 horas após a administração de carprofeno. No entanto, esses autores discutem que a resposta à administração de carprofeno pode ser bastante variável nos gatos. Resultado similar foi observado por Slingsby e Watterman-pearson (2002), os quais identificaram que 4 mg/kg de carprofeno não causou alteração em ALT, ureia e creatinina, apesar de um aumento em aspartato aminotransferase (AST) sem qualquer repercussão clínica ter sido verificado 20 horas após a aplicação.

Administrações repetidas de carprofeno também não parecem comprometer a segurança de seu uso. Quando administrado durante 5 dias e em doses decrescentes (4 mg/kg no primeiro dia, 2 mg/kg no segundo e terceiro dias e 1 mg/kg no quarto e sexto dias), alterações significativas no perfil hematológico, bioquímico ou na mucosa gástrica não foram observadas (STEAGALL et al., 2009a).

Em relação ao potencial analgésico do carprofeno, em gatos, este fármaco atinge seu pico plasmático em torno de 3 horas após administração subcutânea (SC) ou 1 hora se administrado via intravenosa (IV) (TAYLOR et al., 1996). Por essa razão, seu uso isolado pode estar associado a escores de dor mais elevados nas primeiras horas após a cirurgia se comparado com o uso de um opioide fraco isoladamente, como a buprenorfina, fazendo com que a combinação de ambos garanta menor número de resgates analgésicos [5/28 (18%) *versus* 9/28 (33%) para somente buprenorfina e 9/28 (33%), somente carprofeno] com prolongamento do efeito analgésico (STEAGALL et al., 2009b).

Em comparação com meperidina (3,3 mg/kg), o carprofeno (4 mg/kg, SC), promoveu menores escores de dor 1 hora após ovariohisterectomia, além de que os animais neste grupo requereram menos resgates analgésicos (2/57) do que aqueles que receberam apenas o opioide (15/59) (BALMER et al., 1998). Neste trabalho, ainda, três animais do grupo meperidina foram excluídos por falta de eficácia analgésica deste fármaco, apesar da administração de um maior número de doses. Uma vez que a meperidina produziu melhor efeito analgésico do que o carprofeno somente nos primeiros 30 minutos pós-operatórios, os autores acreditam este opioide tenha bloqueado a resposta à dor aguda, sem ter reduzido a resposta inflamatória do trauma tecidual ou o desenvolvimento de sensibilização periférica e ativação de nociceptores. Por essa razão, a analgesia com o carprofeno foi superior.

A eficácia analgésica do carprofeno em gatas submetidas à OVH é similar àquela promovida por outros AINEs como cetoprofeno, ácido tolfenâmico e meloxicam (SLINGSBY; WATERMAN-PEARSON, 2000; SLINGSBY; WATERMAN-PEARSON, 2002). Além disso, o carprofeno previne à hiperalgesia decorrente da injeção de caulim (TAYLOR et al., 2007).

Apesar de esses estudos terem lançado mão de escalas de dor subjetivas e não validadas para a espécie felina, a coerência entre os resultados demonstra que o carprofeno é, de fato, adequado para o tratamento da dor pós-operatória em gatos.

2.2.3 Grapiprant

Os prostanoídes são os mais conhecidos mediadores lipídicos envolvidos na dor inflamatória, sendo a PGE₂ o principal deles. Na tentativa de reduzir os efeitos deletérios advindos do bloqueio da síntese de prostaglandinas, na última década houve uma busca por alternativas aos AINEs e outras formas de reduzir a ação inflamatória da PGE₂ foram desenvolvidas, como os anti-inflamatórios da classe piprant (KAWABATA, 2011)

Os fármacos desta classe são antagonistas dos receptores de prostaglandinas (EP). O grapiprant, pioneiro desta classe, bloqueia especificamente o receptor de PGE₂, EP4. Grapiprant está aprovado para uso somente em cães pela *Food and Drugs Administration* dos Estados Unidos (2016) e pela Agência Europeia de Medicamentos (2018) (MONTEIRO; STEAGALL, 2019). Ao todo, são quatro subtipos de receptores específicos para PGE₂ (EP1, EP2, EP3 e EP4), os quais pertencem a uma superfamília de receptores transmembrana acoplados às proteínas G. Especificamente para o receptor EP4, ao ser estimulado pela ligação com a PGE₂, ativa a enzima adenilato ciclase, gerando AMP cíclico (AMPC), além de ativar a proteína quinase A e EPAC, proteína trocadora diretamente ativada pelo AMPC (KAWABATA, 2011). As células

que expressam o receptor EP4 acumulam AMPc rapidamente, em até 3 minutos, em resposta à PGE₂ (CASTLEBERRY et al., 2001). O receptor EP4 está envolvido tanto na ocorrência de inflamação e dor, como também na mediação da sensibilização central e no desenvolvimento de dor crônica, uma vez que são expressos pelos neurônios sensitivos e tem seus níveis aumentados com a inflamação periférica. A inibição da biossíntese de PGE₂ ou o bloqueio da sua ação resulta em analgesia devido à diminuição da sensibilização periférica (LIN et al., 2006).

A vantagem do uso dos antagonistas de receptores EP4 é que eles não bloqueiam a biossíntese de prostaglandinas, como PGE₂ e PGI₂, ou alteram o equilíbrio entre PGE₂ e tromboxana A₂ que podem estar por trás dos efeitos adversos renais ou cardiovasculares associados ao uso de AINEs (LIN et al., 2006).

Em cães, mas não em gatos, o receptor EP4 já foi caracterizado. Toda a sequência é altamente conservada entre o receptor EP4 humano e canino, com sete domínios transmembrana apresentando um grau de homologia próximo aos 90%. A diferença entre estas duas espécies está na ausência de um resíduo de serina e treonina nos cães, que são potenciais sítios de fosforilação e podem estar envolvidos na ativação do receptor EP4 em resposta ao ligante (CASTLEBERRY et al., 2001). Em roedores, o receptor EP4 é encontrado tanto em fibras mielinizadas quanto não-mielinizadas, sendo altamente expresso no gânglio da raiz dorsal, onde seus níveis aumentam significativamente após indução da inflamação (LIN et al., 2006). St-Jacques e Ma (2013) demonstraram que, *in vitro*, os receptores EP4 são externalizados para a superfície celular no gânglio da raiz dorsal após a ativação com um agonista (CAY10520), e que a densidade de receptores externalizados aumenta quando a concentração e o tempo de exposição a PGE₂ são maiores. Por outro lado, o tratamento com um antagonista (AH23848) bloqueia completamente a exportação do receptor.

Nos tecidos, a distribuição dos receptores EP é bastante variável e cada subtipo pode ter uma localização distinta dentro de um mesmo tecido. Os receptores EP4 e também EP3 são os mais largamente distribuídos, sendo expressos em quase todos os tecidos como aorta, próstata, músculo esquelético, testículos, coração, rins e pulmão em caninos (CASTLEBERRY et al., 2001; SUGIMOTO; NARUMIYA, 2007). A expressão do receptor EP4 é regulada por vários estímulos fisiológicos e patológicos e, em camundongos, demonstrou-se que atua na indução da formação óssea, proteção contra a doença intestinal inflamatória, facilita a migração e maturação das células de Langerhans e medeia a inflamação da artrite induzida por colágeno (SUGIMOTO; NARUMIYA, 2007).

O papel dos receptores EP4 na dor e inflamação já foi demonstrado através da redução tanto da dor como da inflamação, edema e vermelhidão em modelos animais nocauteados para este receptor. Além disso, resultados similares foram obtidos com a administração de antagonistas seletivos para o receptor EP4, como o grapiprant (NAGAHISA; OKUMURA, 2017; NAKAO et al., 2007).

Nakao et al. (2007) demonstraram que, *in vitro*, o grapiprant (CJ-023,423) deslocou a PGE₂ do receptor EP4 de forma dose dependente tanto em células humanas quanto de ratos e que a afinidade do grapiprant foi 200 vezes maior para o receptor EP4 em relação aos outros três subtipos de receptores prostanoídes. Neste estudo, ainda, o antagonismo do grapiprant ao receptor EP4 foi evidenciado pela inibição do aumento intracelular de AMPc induzido pela PGE₂ nas culturas de linhagem celular renal de humanos e do gânglio da raiz dorsal murino. *In vivo*, os autores mostraram que o receptor EP4 medeia a hipersensibilidade induzida por PGE₂ em ratos, uma vez que o grapiprant aumentou o limiar de retirada da pata em ratos que receberam carragenina, um potente promotor de resposta inflamatória local aguda.

Em camundongos deficientes de EP4, nos quais foi induzido processo de osteoartrite, a ausência de EP4 ocasionou doença menos severa e menos lesões histopatológicas associadas à evolução da osteoartrite, além de menores níveis de marcadores inflamatórios. Já nos camundongos de tipo selvagem submetidos ao mesmo processo de indução de osteoartrite, a administração de grapiprant suprimiu a produção de citocinas inflamatórias e diminuiu a progressão da doença. Dessa forma, o antagonismo ao EP4 provou ter efeito anti-inflamatório em roedores e demonstrou que o grapiprant é tão efetivo em combater os efeitos inflamatórios quanto os coxibes (KIRKBY SHAW; RAUSCH-DERRA; RHODES, 2016b).

Apesar das evidências em animais de laboratório, esses indivíduos e os testes realizados neles não são substitutos perfeitos para a dor que ocorre nas situações clínicas dos pacientes, pois a complexidade que decorre do surgimento e do período em que a dor persiste são muito diferentes (SCHOLZ; WOOLF, 2002). Por essa razão, estudos que avaliam a eficácia dos fármacos em situações clínicas devem ser conduzidos.

Em cães, a dose de 2 mg/kg está aprovada para uso clínico pela *Food and Drug Administration* dos Estados Unidos da América. Apesar de doses de até 50 mg/kg terem sido consideradas seguras quando administradas por até nove meses em cães, estes animais apresentaram um aumento na contagem de leucócitos e leve redução de gamaglutamil transferase e albumina, além de vômitos e fezes pastosas ocasionais em relação ao grupo que não recebeu grapiprant (RAUSCH-DERRA; HUEBNER; RHODES, 2015). Nesta espécie, a dose analgésica do grapiprant é estimada em 1,3 a 1,7 mg/kg uma vez ao dia, com base em

cálculos de afinidade comparativa entre grapiprant e os receptores EP4 de cão, rato e humanos e doses analgésicas eficazes definidas em um modelo de dor inflamatória aguda em ratos (NAGAHISA; OKUMURA, 2017).

Em felinos, uma dose analgésica eficaz ainda não foi estimada ou determinada. Contudo, dois estudos avaliando a farmacocinética, a segurança e os efeitos toxicológicos do grapiprant nesta espécie estão disponíveis. Lebkowska-Wieruszewska et al. (2017) mostraram que os parâmetros farmacocinéticos deste fármaco em gatos são semelhantes àqueles apresentados pelos cães. Após administração, grapiprant foi detectado no plasma por até 24h nos gatos, sendo sua meia-vida de 4,40 horas. Apesar de o tempo para atingir a concentração máxima após administração via oral ser de 1,33 h (1 a 2 horas), a biodisponibilidade por esta via é de 39%. Ainda, os gatos apresentam uma taxa de extração inferior àquela obtida em cães, sugerindo que fígado e rins tenham função limitada na depuração deste fármaco. Os autores também mostraram que, caso a concentração plasmática considerada analgésica em gatos seja equivalente àquela de cães (114 – 164 ng/ml), o grapiprant excedeu este valor durante 10 horas em gatos após a administração a 2 mg/kg via oral.

Já Rausch-Derra e Rhodes (2016) administraram 2 mg/kg de grapiprant por 28 dias em gatos e demonstraram que os valores de meia-vida sérica eram baixos, sugerindo pouca capacidade de acumulação com o tempo. A administração neste período, ainda, não alterou os perfis eritrocitários, leucocitários, nem de coagulação ou na medula óssea. O consumo alimentar e peso também não foram alterados pelo tratamento, assim como não foram encontradas lesões histopatológicas viscerais que indicassem toxicidade pelo uso de grapiprant, que foi considerado seguro para uso em felinos.

Três ensaios clínicos para avaliar a eficácia analgésica do grapiprant em cães foram encontrados nas bases de dados até o momento. Em cães com osteoartrite de ocorrência natural, a administração de grapiprant por 28 dias consecutivos levou a uma resposta bem-sucedida em 30 a 46,6% destes animais em comparação com cães recebendo placebo, evidenciado por uma melhora nos sinais clínicos quando avaliados pelos pesquisadores e tutores pelo *Canine Brief Pain Inventory* e um *Total Orthopedic Score*, respectivamente (RAUSCH-DERRA et al., 2016). No entanto, quando sinovite aguda por injeção de urato de sódio foi experimentalmente induzida em cães, os animais que receberam grapiprant (2 mg/kg) apresentaram maiores pontuações de claudicação, pico de força vertical inferior e valores de impulso vertical do que os cães tratados com carprofeno durante as primeiras 24 horas após a indução de sinovite, sugerindo que o carprofeno foi mais eficaz para atenuar a claudicação e garantir analgesia (BUDSBERG et al., 2019). De Salazar Alcalá et al. (2019) encontraram resultados comparáveis

em cães com artrite aguda experimental. As pontuações médias de claudicação dos animais que receberam grapiprant foram significativamente maiores em comparação com os animais tratados com firocoxibe e estatisticamente semelhantes aos dos animais que não receberam analgésicos.

2.3 Dor e avaliação de analgesia em gatos

A incapacidade dos animais de autorrelatar seus sintomas torna a identificação da dor nesses indivíduos um desafio. No entanto, o reconhecimento da dor é fundamental, uma vez que ela contribui para a intensidade da resposta ao estresse e pode aumentar o risco de complicações (HANSEN, 2008). A dor e a consequente resposta ao estresse causado por ela podem modificar a resposta imune a ponto de produzir, até mesmo, imunossupressão e a dor não tratada pode evoluir para hiperalgesia e alodinia (HANSEN, 2008). A lesão cirúrgica ativa a inflamação, promove coagulação e estimula o sistema imune; as fibras C são ativadas e secretam citocinas pró-inflamatórias e sinalizam a lesão para neutrófilos, macrófagos e proteínas de fase aguda (CHAPMAN; TUCKETT; SONG, 2008).

Um recente estudo que avaliou as práticas em relação à dor aguda em gatos, revelou que 55,8% dos médicos veterinários entrevistados garante analgesia insuficiente no pós-operatório de OVH. Especificamente para este procedimento, apenas 30% dos entrevistados afirmou usar AINEs por 48 a 72 horas após a cirurgia (RAE et al., 2021). Além de receberem menos AINEs, gatas submetidas à OVH também recebem menos opioides do que cadelas. De acordo com GATES et al. (2020), enquanto apenas 5% das cadelas submetidas à OVH não são tratadas com opioides, 22% das gatas não recebem estes fármacos. Além disso, enquanto 82% das cadelas recebem morfina ou metadona em algum momento deste procedimento, aproximadamente 60% das gatas recebem butorfanol ou buprenorfina, cuja eficácia analgésica é inferior aos opioides μ puros.

Para gatos, três escalas de avaliação de dor estão devidamente validadas: Escala multidimensional da UNESP-Botucatu para avaliação de dor aguda pós-operatória em gatos (EUNESP), Escala Composta de Glasgow adaptada para felinos (EGLASGOW) e a Escala Facial de Gatos (FSG). As primeiras duas escalas avaliam fatores comportamentais (grau de atividade, resposta à palpação, postura, entre outros) e a EUNESP combina-os com parâmetros fisiológicos (pressão arterial). Já a FSG afere a intensidade da dor a partir da expressão facial, considerando a posição das orelhas, a tensão do focinho, a posição da cabeça em relação aos ombros, a posição das vibrissas e “aperto orbital”.

Sistemas que incluem a avaliação do comportamento e a interação com o animal são considerados mais confiáveis do que sistemas mais simples, como a Escala Visual Analógica (EVA) (ROBERTSON, 2008). A EVA é um sistema subjetivo de avaliação que compreende uma linha de 100 mm de comprimento sobre a qual o avaliador marca a pontuação que descreve a dor observada, de modo que 0 mm significa ausência de dor e 100 mm, a máxima dor possível (GAYNOR; MUIR, 2014).

A EUNESP, criada e validada em gatas submetidas à ovariectomia eletiva, permite o máximo de 30 pontos, considerado dor máxima, e a classificação do paciente como tendo dor leve (0 – 8 pontos), dor moderada (9 – 21 pontos) e dor intensa (22 – 30 pontos). Pontuações acima de 7/30 ou 6/27, quando a pressão arterial não é mensurada, indicam necessidade de analgesia de resgate (BRONDANI et al., 2013; STEAGALL, 2020). Já a EGLASGOW, produzida e validada em gatos submetidos a diferentes tipos de cirurgia e situações clínicas, soma um máximo de 20 pontos (maior dor possível) e indica a complementação analgésica quando o animal atingir 5 pontos (5/20) (REID et al., 2017). Na FSG, cada um dos itens da expressão facial equivale de 0 (ausência da expressão) a 2 (aparência óbvia da expressão) e expressões não visualizadas não recebem pontuação. A pontuação final é a soma dos pontos dividida pelo número de categorias de expressão facial avaliadas. A escala pontua de 0 a 1 e escores acima de 0,39 indica que o resgate analgésico deve ser realizado (EVANGELISTA et al., 2019)

Para a avaliação da dor ser bem-sucedida, conhecer o comportamento normal do animal é essencial e, por essa razão, um período de adaptação prévio a avaliação de dor é importante. Está demonstrado que, para felinos, os sinais mais evidentes de estresse ocorrem 24 horas após a troca de ambiente e confinamento, estabilizando a partir do quarto dia (ELLIS et al., 2017). O estresse agudo induzido pela mudança da rotina, ambiente e de pessoas provoca aumento de marcadores fisiológicos como glicose, cortisol e norepinefrina mesmo quando mudanças comportamentais características de estresse, como buscar esconderijo ou diminuir a atividade exploratória, não são evidentes (IKI et al., 2011). O estresse da adaptação pode ser agravado pela manipulação excessiva dos gatos, como por exemplo, sucessivas coletas de sangue (REYNOLDS et al., 2007) ou contenção intensa. Rand et al. (2002) demonstraram que a concentração de glicose se correlacionou positivamente com o comportamento de fuga desencadeado pela contenção, manipulação necessária à realização de procedimentos nos animais, sem, contudo, se relacionar com a concentração de cortisol. A mensuração da glicose, portanto, parece ser importante para avaliar a forma da contenção e, talvez, a influência da manipulação e do confinamento no grau de estresse dos animais.

3 OBJETIVOS

Este estudo tem como objetivo comparar o efeito analgésico do carprofeno e do grapiprant a cada 12 ou 24 horas na dor pós-operatória em gatas submetidas à OVH eletiva, além dos efeitos dos três tratamentos sobre os parâmetros hematológicos, bioquímicos e de urinálise.

Nossa hipótese é que, ao bloquear os receptores EP4 nos terminais periféricos:

- A analgesia promovida pela administração de grapiprant não será significativamente diferente do efeito analgésico do carprofeno;
- Grapiprant q12h promoverá menores escores de dor do que grapiprant q24h após 10 horas de avaliação, e
- Os perfis hematológico e bioquímico não diferirão entre os três tratamentos.

4 MATERIAL E MÉTODOS, RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os material e métodos, resultados, discussão e conclusão serão apresentados a seguir na forma de artigo científico, o qual foi submetido ao periódico *Journal of Feline Medicine and Surgery* como artigo original.

5 ARTIGO

Randomized clinical trial comparing the effects of grapiprant or carprofen following ovariectomy in the cat: analgesic efficacy, hematological, biochemical and urinalysis evaluation

Luciana G. Teixeira^{a*}, Charline V. Vaccarin^b, Paula I. Schimites^b, Jean C. Gasparotto^b, Gabriela P. Costa^b, Julia M. Griesang^c, Daniel Vargas^b, Emanuelle D. Bortolotto^b, Ana B. U. Soares^b, Jéssica F. Camargo^a, Cíntia M. Andrade^b, André V. Soares^b, Emerson A. Contesini^a

^a Graduate Program in Veterinary Sciences, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Avenida Bento Gonçalves n° 9090, 91540-000, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil

^b Graduate Program in Veterinary Medicine, Centre of Rural Science, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Avenida Roraima n° 1000/97, 97195-000, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil

^c Department of Small Animal Clinics, Centre of Rural Science, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Avenida Roraima n° 1000/97, 97195-000, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil

* Corresponding author. Tel.: +55 519 84632526.

E-mail address: lucianateixeira@gmail.com (L.G. Teixeira).

5.1 Abstract

This study aimed to compare the analgesic effect between carprofen and grapiprant every 12 or 24 hours on postoperative pain in cats undergoing ovariohysterectomy, in addition to the effects on the hematological, biochemical, and urinalysis parameters. Thirty-two female cats were randomly divided into three groups, according to the treatment administered orally two hours before extubation: CAR (cats received 4 mg/kg carprofen, n = 11), GRA1 (cats received 2 mg/kg grapiprant, n = 11), and GRA2 (cats received 2 mg/kg grapiprant q12h, n = 11). Pain was assessed by multidimensional UNESP and Glasgow pain scales for cats preoperatively (baseline) and at 1, 3, 6, 8, 12, and 24 h after extubation. Venous blood was collected at baseline, 12 and 24 h after the administration of CAR or GRA to perform a complete blood count (CBC), the percentage of Heinz bodies (HB), and serum biochemistry (ALT, AST, GGT, ALP, creatinine, and urea). Urinalysis was performed at baseline and 24h. Glucose levels were evaluated at baseline and 1h postoperatively. Pain scores were not different among groups in both scales, although pain was higher at 3h in comparison to 24h in all groups. In GRA-treated groups, 67% (14/21) of cats needed rescue analgesia compared to 18% (2/11) in CAR. Glucose increased from baseline to 1h in GRA-treated groups. None of the CBC, serum biochemistry, and urinalysis parameters differed among groups. Grapiprant did not promote adequate postoperative analgesia in cats undergoing ovariohysterectomy compared to carprofen, and no benefits were observed by administering grapiprant every 12 hours.

Keywords: Carprofen; Feline; Grapiprant; Non-steroidal anti-inflammatory drugs; Surgery

5.2 Introduction

Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are widely used in veterinary practice. In addition to its anti-inflammatory, antipyretic, and analgesic action, the use of NSAIDs is also associated with adverse effects, such as gastric mucosal bleeding and acute kidney injury. These effects are induced by the inhibition of cyclooxygenase enzymes (COX), target molecules of NSAIDs, and, for this reason, they have been contraindicated in renal and hepatic patients, among other conditions (MONTEIRO-STEAGALL; STEAGALL; LASCELLES, 2013). The goal of inhibiting COX is to avoid generating prostanoids from the arachidonic acid cleavage, especially the PGE₂, which is the main lipid mediator that contributes to the inflammatory pain by sensitization of sensory neurons (KAWAHARA et al., 2015). PGE₂ acts by binding to four (EP1 – EP4) G-protein-coupled receptors expressed by primary sensory neurons and dorsal root ganglia (DRG) after peripheral inflammation (CASTLEBERRY et al., 2001; LIN et al., 2006; KAWAHARA et al., 2015). The EP4 receptor has been identified as the primary mediator of the PGE₂-induced sensitization and inflammation (KAWAHARA et al., 2015; LIN et al., 2006; ST-JACQUES; MA, 2013, 2014; SUGIMOTO; NARUMIYA, 2007; WANG et al., 2021).

The characterization and distribution of EP receptors in cats are unknown, however, in dogs, the EP4 receptor has 89% and 90% of identity with the human EP4 receptor at DNA and protein levels, respectively (CASTLEBERRY et al., 2001). The mRNA of the EP4 receptor is variably expressed in the aorta, prostate, skeletal muscle, testis, heart, kidney, and lung tissues in the dog. Its expression is regulated by physiological and pathological stimuli and the receptors are rapidly activated in response to PGE₂ (CASTLEBERRY et al., 2001; SUGIMOTO; NARUMIYA, 2007).

Grapiprant is a novel analgesic and anti-inflammatory drug that specifically antagonizes the PGE₂ receptor, EP4, and its pharmacokinetics parameters and safety have already been demonstrated in cats (LEBKOWSKA-WIERUSZEWSKA et al., 2017; RAUSCH-DERRA; RHODES, 2016). In rats and dogs, the administration of different EP4 receptor antagonists was found to reduce the nociceptive hypersensitivity in acute models of inflammatory pain (LIN et al., 2006; NAKAO et al., 2007; ROBERTSON-PLOUCH et al., 2019). However, no study regarding the analgesic effects of EP4 receptor antagonists in cats was found in the databases.

Carprofen is a preferential COX-2 inhibitor in the cat, capable of blocking the synthesis of PGE₂ (LASCELLES et al., 2007). This NSAID reaches its maximum serum concentration about 3 hours following oral administration and promotes good analgesic comfort in cats undergoing ovariohysterectomy (OVH) in comparison to pethidine (LASCELLES et al., 1995),

meloxicam (SLINGSBY; WATTERMAN-PEARSON, 2002) or buprenorphine (STEAGALL et al., 2009b).

This aim of this study was to compare the analgesic effect between carprofen and grapiprant every 12 or 24 hours on postoperative pain in female cats undergoing elective OVH, in addition to the effects of the three treatments on the hematological, biochemical, and urinalysis parameters.

We hypothesize that by blocking the EP4 receptors in the peripheric terminals, the analgesia promoted by the administration of grapiprant will not be different of the analgesic effect of carprofen. Furthermore, the hematological and biochemical profiles will be similar among the three treatments.

5.3 Material and Methods

5.3.1 Animal Selection

The Ethics Committee on Animal Use from Universidade Federal de Santa Maria (number 8735260121) approved the study. Thirty-two client-owned female cats that were admitted for elective ovariohysterectomy by a ventral midline celiotomy were enrolled after informed written consent was signed by the owners. The cats weighted 2 – 5 kg and aged 12 to 60 months. All cats enrolled were healthy by means of physical, hematological, and biochemical evaluation [total blood count, albumin, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), gamma-glutamyltransferase (GGT), total proteins (TP), fructosamine, creatinine, and urea]. Cats were also negative to FIV and FeLV diseases (ALERE/BIONOTE FIV Ac/FeLV Ag Test Kit). Included animals should tolerate manipulation by not demonstrating fear-based aggression to blood collection, hair clipping and measurement of systolic blood pressure with Doppler sphygmomanometry.

Cats acclimatized for three days before treatment administration and surgery. Throughout both phases, animals were housed in a quiet room in individual cages of 1m³ enriched with paper boxes, pillows, blankets, and toys. During the acclimatization, cats were followed by an investigator for 16 hours a day to adapt the cats to the presence of people and handling. Food and water were provided *ad libitum*, except by the eight hours pre-surgery when food but not water was withheld.

5.3.2 Study protocol

Cats were randomly allocated into three groups by drawing pieces of paper with group identifications from an envelope: CAR (cats received 4 mg/kg carprofen, n = 11), GRA1 (cats received 2 mg/kg grapiprant, n = 11), and GRA2 (cats received 2 mg/kg grapiprant q12h, n = 11). All treatments were administered orally two hours before extubation by a person not related to pain evaluation (JG). The dose of grapiprant used in this research was determined based on studies by Lebkowska-Wieruszewska et al. (2017) and Rausch-Derra and Rhodes (2016) that identified 2 mg/kg as a safe dose for felines. Twelve hours after the first dose of each treatment, a person not related to the pain evaluation (JG) administered the second dose of grapiprant to animals in GRA2. Animals from the other groups also received a placebo pill at this time point in order to keep pain evaluators masked to the treatments.

Cats were premedicated with acepromazine (0.05 mg/kg) diluted in NaCl 0.9% to a volume of 1 mL administered intravenously over 2 minutes, 30 minutes before anesthetic induction. General anesthesia was induced with propofol to effect administered with a syringe pump at a speed of 2.5 mg/kg/min, followed by orotracheal intubation after desensitizing the glottis with the aspersion of lidocaine 2% (0.1 mL). Anesthetic maintenance was achieved with isoflurane carried in oxygen. Intraoperative analgesia was accomplished with a remifentanil constant rate infusion (CRI; 10 µg/kg/h) via a syringe pump starting immediately after orotracheal intubation and finishing during skin closure. Remifentanil CRI was increased or decreased by 2,5 µg/kg/h if systolic blood pressure, heart rate (HR), or respiratory rate (RR) were 20% higher or lower than the preincisional values.

After stabilization of the anesthetic plane, a pair of proficient surgeons (DV and ED) performed the OVH by celiotomy (MACPHAIL, 2013), which should last no longer than 30 minutes. Both anesthesia and surgery were always performed by the same personnel. Throughout the anesthetic period, HR, RR, esophageal temperature, systolic, diastolic, and mean blood pressures (SAP, DAP, and MAP, respectively) peripheral capillary oxygen saturation (SpO₂) and end-tidal carbon dioxide partial pressure (EtCO₂) were monitored continuously using a multi-parameter monitor and recorded every 5 minutes.

5.3.3 Pain evaluation

Two evaluators masked to the treatment assessed pain at the third day of acclimatization (baseline) and 1, 3, 6, 8, 12 and 24 hours following extubation. The UNESP-Botucatu Multidimensional Composite Pain Scale (UNESP) and the Glasgow Feline Composite Measure

Pain Scale (GLASGOW) were used to evaluate pain. Morphine (0.1 mg/kg, IV) was administered as rescue analgesia if scores exceeded six points in UNESP or five in GLASGOW, followed by pain reassessment with both scales after 30 minutes until normalization of the pain scores (*Figure 1 – Timeline of the study design.*). The mean of the two evaluators was considered in the statistical analysis.

Sedation score evaluated at T1, prior to postoperative analgesia assessment, by using a simple sedation scale proposed by Lascelles, Butterworth and Waterman (1994) in which the posture, mental alertness and the CAT's ability to stand and walk are observed. The scores were: 0 fully alert and able to stand and walk, 1 alert and able to maintain sternal recumbency, 2 drowsy and able to maintain sternal recumbency but unable to stand, 3 fast asleep.

5.3.4 Sample collection

Since we administered grapiprant every 12 hours in clinical conditions, which is not described in the current literature, we performed hematological, biochemical and urinalysis evaluations in an attempt to identify any alterations that could occur by this dosage.

Venous blood was collected from a cephalic vein catheter after the dead space was washed with 0.5 mL saline and the first 0.5 mL of blood discarded. Blood samples were obtained immediately before the administration of the treatments (baseline) and 12 and 24 hours after the administration of carprofen and grapiprant. Total blood count with the Heinz bodies percentage (HB) and serum biochemistry (ALT, AST, GGT, ALP, creatinine, and urea). Glucose levels were also assessed using a point-of-care glucometer at baseline and 1h (*Fig. 1*).

Urine was collected by cystocentesis at baseline and catheterization at 24 h after extubation for urinalysis and evaluation of the urine protein:creatinine ratio (UPC). Urinary catheterization was performed after administering propofol (2 to 4 mg/kg), after the final blood collection and pain assessment.

Twenty-four hours after extubation all animals were discharged home with a prescription of carprofen 2.2 mg/kg every 24h for 2 days and postoperative care. Tramadol (2 mg/kg IV) was given to all cats before discharge.

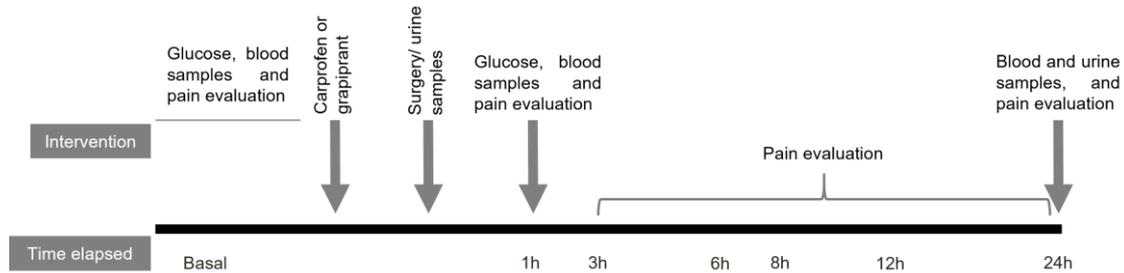


Figure 1 – Timeline of the study design.

Twenty-four hours after extubation all animals were discharged home with a prescription of medication and postoperative care.

5.3.5 Statistical analysis

The sample size was determined based on a similar study by Pereira et al. (2020) in which the analgesic efficacy of two different dosages of dipyrone was compared to meloxicam and 10 cats were enrolled in each group (30 animals in total) to identify a difference of 50% of rescue analgesia between groups. In our study, we proposed using 33 cats (11 in each group).

The data were analyzed using GraphPad Prism 9.0.2 for Windows (GraphPad Software, San Diego, California USA). Normality was assessed by the Shapiro-Wilk test. Data regarding observations over time (pain scores, hematocrit, leukocytes, platelets, HB, ALT, AST, ALP, GGT, creatinine, urea, glucose levels, and urinalysis parameters) were analyzed by repeated-measures ANOVA with one grouping factor (CAR, GRA1, and GRA2) and one repeat factor (time), followed by Tukey's test *post hoc*. Survival curves to estimate the probability of not receiving rescue analgesia until 24h were assessed by the Kaplan-Meier method with differences compared by the log-rank test. Demographic data, total anesthetic and surgery times, the time between carprofen/ grapiprant administration and extubation, and propofol dose requirement were compared among groups by Kruskal-Wallis or one-way ANOVA according to data distribution. The number of cats requiring rescue analgesia was compared among groups by Fisher's exact test. Correlation between the two pain evaluators was assessed by Spearman. Differences were considered statistically significant at $P < 0.05$.

5.4 Results

Thirty-two cats completed the study (*Fig. 2*). Age and weight were similar among groups (Table 1). The time between the administration of the treatments and extubation, the duration of anesthesia and surgery were also comparable among groups, as was the dose of propofol used (Table 2) and the constant rate infusion of dose of remifentanil (Table 3).

Table 1 – Age and weight of the cats included in the study

	Total (N=32)	CAR (n=11)	GRA1 (n=10)	GRA2 (n=11)	p-value
Age (months)	14.00 (10.00 – 24.00)	14.50 (11.00 – 37.50)	12.00 (8.50 – 26.00)	15.00 (12.00 – 24.00)	0.5342
Weight (kg)	2.92±0.51	2.98±0.58	2.82±0.40	2.92±0.59	0.7897

CAR = Carprofen 4 mg/kg; GRA1 = Grapiprant 2 mg/kg q24h; GRA2 = Grapiprant 2 mg/kg q12h

Table 2 – Data regarding time between carprofen/ grapiprant administration and extubation (C/G – E) and duration of anesthesia and surgery

Time (min)	Total (N=32)	CAR (n=11)	GRA1 (n=10)	GRA2 (n=11)	p-value
C/G – E	128.1±18.94	129.8±18.39	128.1±16.08	126.4±23.13	0.9178
Anesthesia time	30.44±7.55	29.18±5.32	33.20±10.53	29.18±6.12	0.6212
Surgery duration	22.19±5.33	20.91±3.80	24.50±7.26	21.36±4.27	0.2564
Propofol (mg/kg)	9.13±2.27	9.82±2.91	8.75±1.28	8.76±2.26	0.4415

CAR = Carprofen 4 mg/kg; GRA1 = Grapiprant 2 mg/kg q24h; GRA2 = Grapiprant 2 mg/kg q12h

Table 3 – Remifentanyl constant rate infusion in CAR or GRA

Time	Total (n=32)	CAR (n=11)	GRA (n=21)	p-value
5 min	10,00 ± 0,00	10,00 ± 0,00	10,00 ± 0,00 ab	0,844
10 min	11,56 ± 5,43	10,45 ± 1,50	12,14 ± 6,62 ab	0,414
15 min	11,56 ± 2,68	10,90 ± 2,02	11,19 ± 3,02 b	0,784
20 min	9,14 ± 3,15	8,86 ± 2,05	9,28 ± 3,63 ac	0,725
25 min	7,77 ± 3,48	7,00 ± 3,49	8,23 ± 3,50 ac	0,385
30 min	10,00 ± 2,43	9,16 ± 2,04	7,18 ± 2,4 c	0,138

CAR = Carprofen 4 mg/kg; GRA = mean ± SD of Grapiprant 2 mg/kg q12h and q24h.

abc – denote $P < 0.05$ between time-points for the same treatment.

The constant rate infusion of remifentanyl did not change over time with carprofen administration ($P > 0.01$). However, at 15 minutes of surgery animals treated with grapiprant required a higher dose of remifentanyl than at 20, 25 and 30 minutes ($p = 0.018$ and 0.0001 , respectively) of procedure. No statistical difference was observed between CAR and GRA for remifentanyl at any time-point. Intraoperatively, three cats in CAR (27%) and in GRA1 (30%) and two in GRA2 (18%) had the remifentanyl CRI increased at 10 or 15 minutes of surgery.

Sedation scores were similar between groups as shown in Table 4.

Table 4 – Sedation scores for CAR and GRA assessed by a simple sedation score (0 – 3) as proposed by Lascelles, Butterworth and Waterman (1994)

Groups	Sedation score
CAR (n = 11)	0,95
GRA (n = 21)	0,97

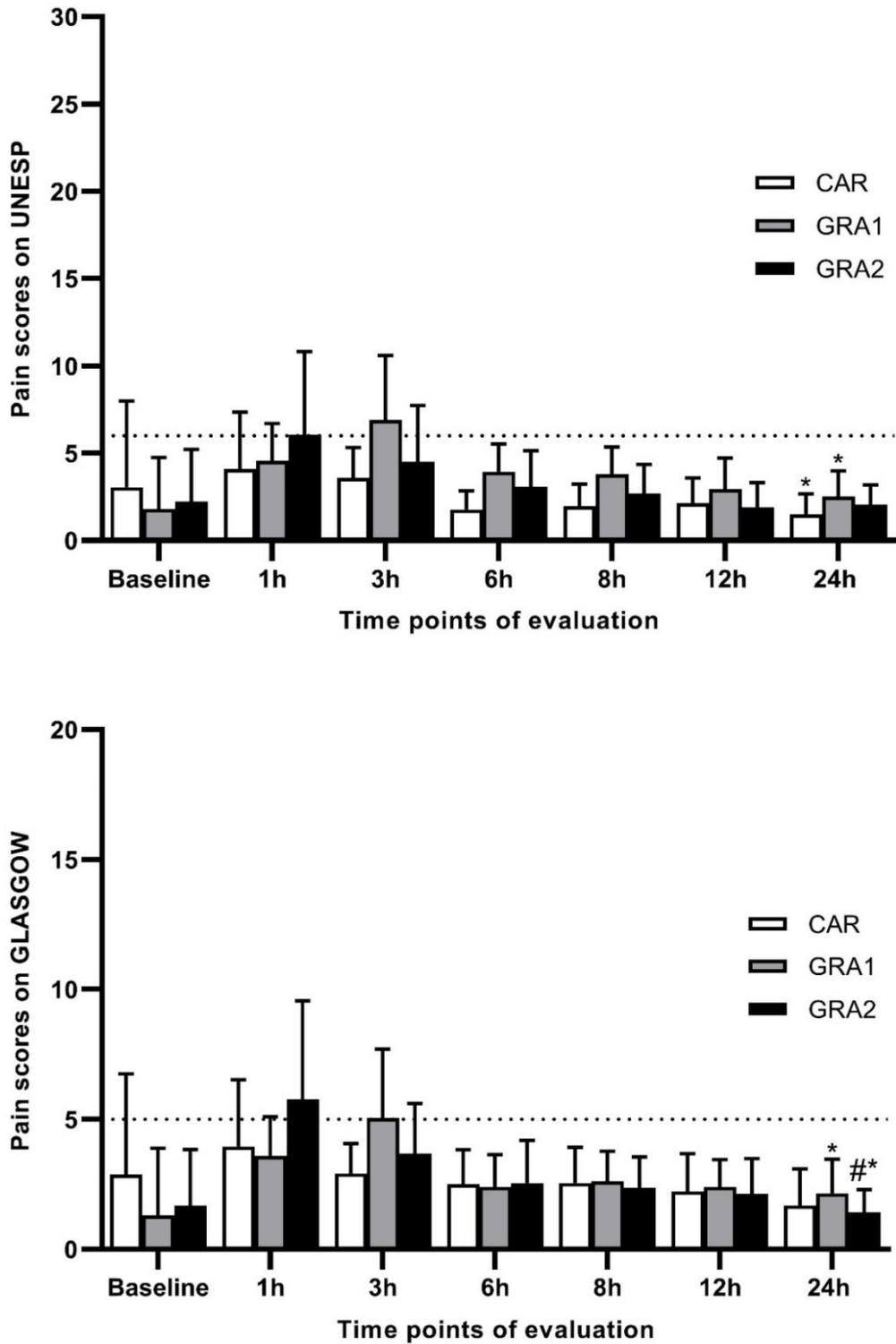
CAR = Carprofen 4 mg/kg; GRA = mean \pm SD of Grapiprant 2 mg/kg q12h and q24h

5.4.1 Analgesia assessment

Regarding postoperative pain evaluation, no difference was observed among treatments ($P=0.1909$) by UNESP (mean \pm SD for CAR 2.57 ± 0.97 , GRA1 3.77 ± 1.66 , and GRA2 3.21 ± 1.52), despite pain scores differed over time within CAR and GRA1 ($P<0.0001$). In both CAR and GRA1, pain was lower at 24h compared to 3h ($P=0.0474$ and 0.0204 , respectively). By GLASGOW, no difference among groups was detected ($P=0.9608$; mean \pm SD for CAR 2.66 ± 0.70 , GRA1 2.78 ± 1.20 , and GRA2 2.79 ± 1.50), but pain differed within grapiprant treated groups over time ($P<0.0001$). As it happened in the UNESP assessment, pain at 3h was higher than at 24h in GRA1 and GRA2 ($P=0.0439$ and 0.0109 , respectively), while in GRA2 pain at 24h was also lower than at 1h ($P=0.074$). Evaluator's assessments were positive correlated for both scales ($R=0.7793$ $P<0.0001$; 95% CI 0.7201 to 0.8272 and $R = 0.7715$; $P < 0.0001$; 95% CI 0.7105 to 0.8209 for UNESP and GLASGOW, respectively) (*Fig. 3*).

Sixty-seven percent of animals (14/21) treated with grapiprant required supplemental analgesia in comparison with only 18% (2/11) in the CAR group (Fisher's exact test, $P=0.0233$).

Figure 2 – Pain scores on the (a) UNESP Multidimensional Acute Pain Scale for Cats and (b) the Glasgow Feline Composite Measure Pain Scale for Cats

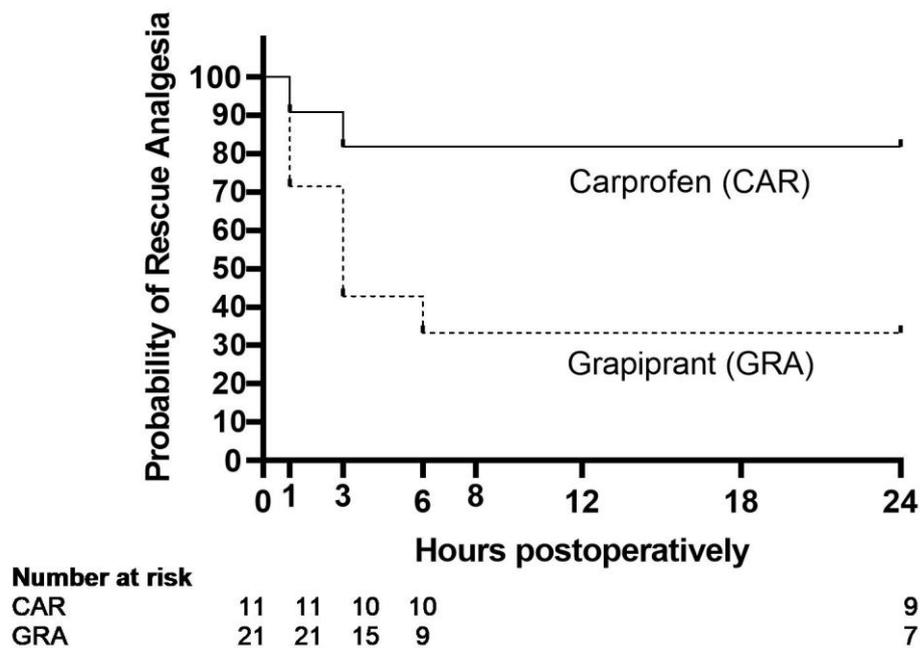


CAR = Carprofen 4 mg/kg; GRA1 = Grapiprant 2 mg/kg q24h; GRA2 = Grapiprant 2 mg/kg q12h. *Denotes statistical difference ($P < 0.05$) compared to T3. #Denotes statistical difference

compared to T1. Dashed lines indicate the threshold score for rescue analgesia in UNESP (≥ 6) and GLASGOW (≥ 5)

Most of the rescue analgesia was administered in the first 3 hours post-surgery. At T1, one animal in CAR (1/2) and five (5/14; 35%) in GRA received morphine, while at T3, another animal in CAR (1/2) and seven in GRA (7/14; 50%) required supplemental analgesia. Two animals in GRA (2/14) required analgesic rescue at T6. Rescue analgesia was required twice in two cats in GRA, at T1 and T3 (1/14), and T3 and T6 (1/14). Survival curves for both groups CAR and GRA were statistically different (log rank test, $P=0.0152$). Cats receiving carprofen required rescue analgesia $\frac{1}{4}$ the rate of cats treated with grapiprant ($HR=0.25$). At the end of 24 hours, while 82% of animals in CAR were free from supplemental analgesia, only 34% in GRA has not been received analgesic rescue (*Figure 3 – Survival curve for rescue analgesia*).

Figure 3 – Survival curve for rescue analgesia



CAR = Carprofen 4 mg/kg; GRA = mean \pm SD of Grapiprant 2 mg/kg q12h and q24h

Glucose levels were statistically similar among CAR (69.18 ± 7.08 mg/dL), GRA1 (72.00 ± 26.01 mg/dL) and GRA2 (65.72 ± 14.16 mg/dL) at baseline and at 1h (87.36 ± 25.18 , 101.00 ± 39.62 , and 102.81 ± 28.05 mg/dL, respectively; $P = 0.6720$). However, GRA1 and GRA2 had higher glucose levels at 1h in relation to baseline ($P = 0.0031$ and 0.0001 , respectively), while no difference was observed between baseline and 1h in CAR ($P = 0.0680$).

5.4.2 Hematological, biochemical, and urinalysis assessments

Data regarding hematological parameters are presented in Table 3. Treatments had no effect on hematocrit levels ($P = 0.8062$) and neither had the time ($P = 0.0774$). Plasma proteins, by its turn, changed over time ($P < 0.0001$) within the three groups, not varying among groups though ($P = 0.3557$). In both CAR and GRA2, plasma proteins were higher at baseline ($P = 0.0006$ and 0.0376 , respectively) and 24h ($P = 0.0091$ and 0.0113) than at 12h while in GRA1 proteins were lower at 12h ($P = 0.0064$) and 24h ($P = 0.0101$) in relation to baseline.

Platelets remained constant during all the experiment phase among treatments ($P = 0.4178$) and over time ($P = 0.3116$).

Heinz bodies did not change with the different treatment ($P = 0.2674$), however, it varied within the CAR group ($P = 0.0016$), being the baseline 0.06 and 0.04% higher than at 12h and 24h ($P = 0.0120$ and 0.0029 , respectively).

Leucocytes were not influenced by any of the treatments ($P = 0.6353$), but all the three groups increased leucocyte count from baseline to 12h ($P = 0.0181$, 0.0462 , and 0.0059 for CAR, GRA1, and GRA2, respectively).

Table 5 – Hematological parameters over time

Variables/ Time-points	Total (N=32)	CAR (n=11)	GRA1 (n=10)	GRA2 (n=11)
Hematocrit (%)				
Baseline	39.81±0.18	39.64±4.50	39.80±6.00	40.00±4.09
12h	37.97±0.77	37.18±2.64	38.00±5.90	38.72±2.58
24h	38.92±0.60	38.72±5.71	38.44±4.21	39.60±4.00
Plasma proteins (g/dL)				
Baseline	7.77±0.10	7.69±0.54 a	7.80±0.50 a	7.74±0.55 a
12h	7.08±0.25	6.80±0.40 b	7.13±0.48 b	7.30±0.50 b
24h	7.54±0.22	7.45±0.78 a	7.37±0.60 b	7.80±0.61 a
Platelets (μL)				
Baseline	232.18±32.31	268.71±24.08	207.33±10.43	220.05±10.45
12h	182.50±99.70	96.50±10.01	287.75±15.08	163.25±11.62
24h	201.10±33.58	201.80±10.16	234.33±9.98	167.16±7.42
Heinz bodies (%)				
Baseline	0.56±0.28	0.35±0.27 a	0.45±0.34	0.88±1.09
12h	0.30±0.18	0.11±0.15 b	0.31±0.15	0.49±0.78
24h	0.23±0.07	0.16±0.17 b	0.24±0.30	0.31±0.67
Leucocytes (μL)				
Baseline	15.761±2.216	18.045±1.190 a	13.620±5.528 a	15.618±5.070 a
12h	22.183±2.729	24.890±9.194 b	19.433±5.040 b	22.227±6.360 b
24h	20.854±1.452	20.445±9.233 a	22.466±16.045 ab	19.650±4.951 ab

CAR = Carprofen 4 mg/kg; GRA1 = Grapiprant 2 mg/kg q24h; GRA2 = Grapiprant 2 mg/kg q12h. ab – different letters denote difference ($P < 0.05$) between time-points within the same group

Urinary density did not vary with any of the treatment ($P = 0.1179$) or time ($P = 0.1394$), as such as the pH values ($P = 0.5949$ for treatment and $P = 0.4864$ for time), or UPC ($P = 0.8188$ for group and $P = 0.4302$ for time) (Table 4).

Table 6 – Urinalysis data regarding treatment and time point of evaluation. CAR, Carprofen 4 mg/kg; GRA1, Grapiprant 2 mg/kg q24h; GRA2, Grapiprant 2 mg/kg q12h; UPC, the urine protein to creatinine ratio.

Variables/ Time-points	Total (N=32)	CAR (n=11)	GRA1 (n=10)	GRA2 (n=11)
Urinary density				
Baseline	1049±0.21	1050±0	1049±0.84	1050±0
24h	1050±0	1050±0	1050±0	1050±0
pH				
Baseline	6.08±0.07	6.09±0.30	6.15±0.33	6.00±0.00
24h	6.02±0.10	5.90±0.49	6.05±0.15	6.11±0.33
UPC				
Baseline	1.01±0.14	0.86±0.56	1.51±1.14	1.03±1.26
24h	1.22±0.06	1.16±1.03	1.28±0.78	1.23±0.73

Urinary casts were absent in 27/31 (87%) of the animals at baseline and in 81% (25/31) at 24h. Hyaline and granular casts were observed in one (3%) and three (10%) of the cats at baseline, and in three (10%) and two (6%) animals at 24h.

Biochemical variables are presented in Table 5. Albumin ($P = 0.1775$), ALT ($P = 0.4573$), AST ($P = 0.6379$) and ALP ($P = 0.5976$) were not affected by any of the treatments and remained stable over time ($P = 0.9453$, $P = 0.0795$, $P = 0.2459$ and $P = 0.4396$, for each of the previous variables respectively). Although GGT did not change with any of the treatments ($P = 0.1412$) or within groups ($P = 0.3928$). Total proteins were not different among groups ($P = 0.7562$) or time points of assessment ($P = 0.7571$).

Creatinine was not different among groups ($P = 0.3460$), however GRA2 baseline values were significantly lower than values at 12h and 24h ($P = 0.0028$ and 0.0044 , respectively). Urea did not vary with the treatments ($P = 0.1077$). However, in CAR, baseline and 12h urea values were higher than at 24h ($P=0.0141$ and 0.0131 , respectively). In GRA2, baseline values were also higher than at 12h ($P=0.0093$), without differences among the other time points. Urea values in GRA1 did not vary over time.

Table 7 – Data regarding treatment and time point of evaluation. CAR, Carprofen 4 mg/kg; GRA1, Grapiprant 2 mg/kg q24h; GRA2, Grapiprant 2 mg/kg q12h. ab – different letters denote difference ($P < 0.05$) between time-points within the same group.

Variables/ Time-points	Total (N=32)	CAR (n=11)	GRA1 (n=10)	GRA2 (n=11)
Albumin (g/dL)				
Baseline	3.14±0.30	3.07±0.31	3.23±0.35	3.13±0.24
12h	3.14±0.29	3.01±0.20	3.19±0.33	3.23±0.30

	24h	3.12±0.36	2.98±0.20	3.16±0.54	3.24±0.26
ALT (g/dL)	Baseline	43.19±47.42	30.27±21.68	67.80±77.00	33.72±17.11
	12h	54.56±56.89	64.27±59.14	61.50±73.47	35.54±35.25
	24h	56.55±46.50	61.36±46.27	64.70±60.13	44.33±32.40
AST (μL)	Baseline	15.84±16.35	12.81±9.93	19.30±25.63	15.72±10.81
	12h	34.81±15.94	36.54±16.90	35.20±14.36	32.72±17.53
	24h	31.16±17.80	28.09±13.30	37.50±19.15	28.45±20.40
ALP (%)	Baseline	45.72±29.62	39.45±20.50	60.60±44.52	38.45±14.34
	12h	46.23±28.54	49.30±29.68	46.80±31.13	42.90±28.49
	24h	40.41±30.00	43.36±28.90	42.60±28.23	35.45±34.54
GGT (μL)	Baseline	1.12±0.90 a	1.00±0.77	0.80±1.03	1.54±0.82
	12h	2.19±2.31 b	1.40±2.06	2.70±2.40	2.45±2.46
	24h	1.25±1.39 ab	0.70±1.05	2.00±1.49	1.09±1.37
Total Proteins (g/dL)	Baseline	6.47±0.74	6.19±0.74	6.69±0.77	6.56±0.70
	12h	6.36±0.85	6.31±0.90	6.38±1.00	6.40±0.76
	24h	6.43±0.79	6.42±0.77	6.43±0.63	6.44±1.00
Creatinine (mg/dL)	Baseline	0.96±0.22	0.89±0.23	0.93±0.13	1.07±0.24 a
	12h	0.87±0.18	0.86±0.21	0.87±0.15	0.89±0.18 b
	24h	0.86±0.17	0.80±0.12	0.90±0.20	0.90±0.18 b
Urea (mg/dL)	Baseline	44.34±10.22	47.09±8.05 a	43.10±9.23	47.54±5.87 a
	12h	42.61±9.75	50.50±11.54 a	38.10±5.23	39.54±6.94 b
	24h	40.13±7.25	40.45±8.53 b	38.60±4.76	41.18±8.14 ab

5.5 Discussion

In this study, although neither of the treatments had effects on hematological, urinary, and biochemical parameters, grapiprant was less effective in providing analgesia in the first 3 hours postoperative compared to carprofen.

The analgesic efficacy of carprofen in cats undergoing OVH has already been demonstrated in the literature (LASCELLES et al., 1995; SLINGSBY; WATERMAN-PEARSON, 2000; SLINGSBY; WATTERMAN-PEARSON, 2002; STEAGALL et al., 2009b). Grapiprant by its turn is a new non-steroidal anti-inflammatory and analgesic drug whose mechanism of action differs from the cyclooxygenase inhibitors (SARTINI; GIORGI, 2021). By specifically antagonizing both EP2 and EP4 receptors, grapiprant prevents PGE₂ from binding to these receptors and activating intracellular signaling nociceptive pathways that will ultimately result in sensitization in both peripheral and central nervous systems (CHANDRASEKHAR et al., 2017). In rodents, grapiprant orally administered at 133 and 400 mg/kg successfully decreased the postoperative pain after paw incision, demonstrated by a significant less difference in hindpaw weight distribution in comparison to vehicle-treated rats. (NAGAHISA; OKUMURA, 2017). Nakao et al. (2007) showed that grapiprant at 100 mg/kg increased the paw withdrawal threshold after carrageenan injection in comparison to vehicle treatment, showing a response similar to piroxicam-treated rats. Also, this research demonstrated that grapiprant diminished the weight bearing differences after Freund's complete adjuvant administration, showing that grapiprant had antihyperalgesic effects against inflammatory acute and chronic pain in rats.

According to our findings, during the first 3 hours postoperative, grapiprant-treated groups showed pain scores numerically greater than the cats in CAR. Although there was no statistical difference among groups over time, grapiprant provided less analgesia than carprofen since only 33% of the animals in GRA did not need rescue analgesia against 82% in CAR. However, in GRA, except for two animals, the other 12 required supplemental analgesia only once after being administered morphine. After the sixth hour, no animal in GRA1 or GRA2 required analgesic rescue, suggesting that administering grapiprant every 12 hours did not affect the postoperative analgesia. Also, the increase in glucose levels in GRA groups at 1h could have been caused by the inadequate analgesia provided during this period in these groups.

Three clinical trials to evaluate the analgesic efficacy of grapiprant in dogs have been conducted. RAUSCH-DERRA et al. (2016) obtained a successful response of 30 – 46.6% in dogs with naturally occurring osteoarthritis in comparison to placebo (16 – 32.8%) after

administering grapiprant for 28 consecutive days. These authors also found an improvement in the clinical signs when assessed by the investigators and the owners by the Canine Brief Pain Inventory and a Total Orthopedic Score, respectively. However, when dogs were experimentally induced acute synovitis by sodium urate injection, the animals receiving grapiprant (2 mg/kg) showed higher lameness scores, lower peak vertical force, and vertical impulse values than carprofen-treated dogs during the first 24 hours after induction of synovitis, suggesting that carprofen was more effective for attenuation the lameness and to improve analgesia (BUDSBERG et al., 2019). DE SALAZAR ALCALÁ et al. (2019) found comparable results in dogs with experimental acute arthritis. The mean lameness scores of animals receiving grapiprant were significantly higher in comparison to firocoxib-treated animals, and statistically similar to the animals receiving no analgesics. Our findings are corroborated by those previous investigations that indicate low and insignificant efficacy of grapiprant for acute pain inflammation in dogs.

We administered grapiprant approximately 2 hours before extubation in the expectation that at the end of the surgery its peak serum concentration had already been reached. A pharmacokinetics study in the cat reported that grapiprant at 2 mg/kg was rapidly absorbed, reaching the maximum concentration of 1.33 (range 1 – 2 h) after oral administration (LEBKOWSKA-WIERUSZEWSKA et al., 2017). The mean terminal half-life reported in that study was 4.40 hours, and grapiprant concentration was detected in the plasma until 24 hours after the administration, although its plasma concentration was below the minimal effective concentration described for dogs (164 ng/ml) from 10 hours onwards. That said, in the present study it was expected that grapiprant would promote adequate analgesia from the end of surgery up to around 10 hours post-administration. Surprisingly, no animal required rescue analgesia after the first 3 – 6 hours postoperative when most cats under grapiprant treatment needed a morphine injection. Once morphine is expected to be effective for 4 – 6 hours in the cat (STEAGALL, 2020), the lower pain scores observed after that period should possibly be attributed to a late analgesic effect of grapiprant. The *per os* bioavailability of grapiprant is 39.6% in cats with a wide plasma concentration variability that might explain why 33% of cats in GRA1/ GRA2 did not require analgesic rescue in the first hours after surgery. *In vitro*, the greater the concentration and time of exposure to PGE₂, the greater the density of EP4 receptors translocated and externalized to the cell surface in the dorsal ganglion root neurons (ST-JACQUES; MA, 2013). Possibly, PGE₂ needs to reach a sufficient concentration to externalize EP4 receptors, so EP4 receptors inhibitor grapiprant can take effect and this could justify the possible late analgesic effect of this drug observed in our study.

Carprofen reaches its plasma peak concentration around 3 hours after oral administration (TAYLOR et al., 1996). The CAR group findings match the results from previous studies indicating that carprofen alone promotes adequate postoperative analgesia, considering the low percentage of rescue analgesia administered (SLINGSBY; WATERMAN-PEARSON, 2000); SLINGSBY; WATTERMAN-PEARSON, 2002).

Regarding the hematological parameters, the transient leucocytes increase during the first 12 hours was probably due to the initial inflammatory process as reported by ALVES et al. (2010). The increase in cortisol following an inflammatory stimulus such as surgery induces the detachment of mature neutrophils from the endothelium into the bloodstream before moving into inflamed tissues (PALTRINIERI, 2008). Hematocrit, platelets, and Heinz bodies were unchanged throughout 24 hours in accordance to STEAGALL et al. (2009a) and RAUSCH-DERRA and RHODES (2016) who fail to demonstrate any significant changes in the hematological profile of cats submitted to repeated administrations of carprofen or grapiprant, respectively.

Although serum creatinine and blood urea nitrogen are considered less accurate in identifying renal damage, both variables are traditionally used as markers of renal insufficiency and routinely measured before administering NSAIDs (CHALIFOUX et al., 2021). In this study, serum creatinine and urea concentration were statistically similar among groups although CAR and GRA2 had elevated baseline values for both parameters. Urinary casts, which might indicate acute tubular necrosis depending on the type of sediment present (CHAWLA et al., 2008), were also absent in 81% of the animals 24 hours after administering the treatments and are consistent with the biochemical variables. The formation of urinary casts can be affected by urinary osmolarity and pH (CHAWLA et al., 2008), however, in this study, both urinalysis parameters remained stable across all groups and the time points assessed. The urine protein to creatinine ratio above 0.4 indicates proteinuria in cats (HARLEY; LANGSTON, 2012). In our study, although all groups had UPC above 1.0 24 hours after the administration of the treatments, no difference was observed from the baseline values. These findings added to the urinalysis data and the profile of the casts shows that no acute renal damage was observed with the administration of any of the treatments.

Albumin, total protein, ALT, AST, GGT, and ALP levels observed in our study demonstrate that not only the treatments did not differ from each other, but that carprofen or grapiprant, even when administered every 12 hours, did not impair the liver function. Those results agree with STEAGALL et al. (2009a) who demonstrated that carprofen did not induce hematological or serum biochemistry impairment in cats even when administered over six

consecutive days. Likewise, grapiprant at 2 mg/kg did not change the erythrocyte, leukocyte, or coagulation profiles and no visceral histopathological lesions were found that indicated toxicity due to the use of grapiprant, which was considered safe for use in felines (RAUSCH-DERRA; RHODES, 2016).

Despite a favorable analgesic result was not found for grapiprant, the administration of only one dose is a limitation of this study. According to Nagahisa e Okumura (2017), in dogs and rats, the plasma levels of grapiprant increased in a dose-dependent manner while, in rats, only a higher dose of grapiprant (133.33 mg/kg *versus* 44.4 mg/kg) promoted analgesia after paw incision surgery. In this way, administering gradually increasing doses of grapiprant might have led to another result in our study.

5.6 Conclusions

Grapiprant was not effective in promoting adequate postoperative analgesia in cats undergoing OVH in comparison to carprofen. No benefits were observed by administering grapiprant every 12 hours. No hematological or biochemical alterations were caused by any of the treatments in the 24 hours evaluation.

5.7 Conflict of interest statement

None of the authors of this paper have a financial or personal relationship with other people or organizations that could inappropriately influence or bias the content of the paper.

5.8 Acknowledgments

This study was partially supported by CNPq (National Council for Scientific and Technological Development) and Alere Inc. which provided the FIV Ac/FeLV Ag Test Kit.

5.9 References

- ALVES, A. E. et al. Leucogram and serum acute phase protein concentrations in queens submitted to conventional or videolaparoscopic ovariectomy. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 1, p. 86–91, fev. 2010.
- BACCHI, S. et al. Clinical Pharmacology of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs: A Review. **Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry**, v. 11, n. 1, p. 52–64, 1 set. 2012.
- BALMER, T. V. et al. Comparison of carprofen and pethidine as postoperative analgesics in the cat. **Journal of Small Animal Practice**, v. 39, n. 4, p. 158–164, abr. 1998.
- BERGH, M. S.; BUDSBERG, S. C. The Coxib NSAIDs: Potential Clinical and Pharmacologic Importance in Veterinary Medicine. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 19, n. 5, p. 633–643, 1 set. 2005.
- BRONDANI, J. T. et al. Validation of the English version of the UNESP-Botucatu multidimensional composite pain scale for assessing postoperative pain in cats. **BMC Veterinary Research**, v. 9, n. 1, p. 143, 17 jul. 2013.
- BUDSBERG, S. C. et al. Comparison of two inhibitors of E-type prostanoid receptor four and carprofen in dogs with experimentally induced acute synovitis. **American journal of veterinary research**, v. 80, n. 11, p. 1001–1006, 1 nov. 2019.
- CASTLEBERRY, T. A. et al. Molecular cloning and functional characterization of the canine prostaglandin E2 receptor EP4 subtype. **Prostaglandins and Other Lipid Mediators**, v. 65, n. 4, p. 167–187, 1 jul. 2001.
- CHALIFOUX, N. V. et al. Evaluation of renal and hepatic blood value screening before non-steroidal anti-inflammatory drug administration in dogs. **Journal of Small Animal Practice**, v. 62, n. 1, p. 12–18, 1 jan. 2021.
- CHANDRASEKHAR, S. et al. Analgesic and anti-inflammatory properties of novel, selective, and potent EP4 receptor antagonists. **Pharmacology Research & Perspectives**, v. 5, n. 3, p. e00316, 1 jun. 2017.
- CHAPMAN, C. R.; TUCKETT, R. P.; SONG, C. W. Pain and Stress in a Systems Perspective: Reciprocal Neural, Endocrine, and Immune Interactions. **The Journal of Pain**, v. 9, n. 2, p. 122–145, fev. 2008.
- CHAWLA, L. S. et al. Urinary Sediment Cast Scoring Index for Acute Kidney Injury: A Pilot Study. **Nephron Clinical Practice**, v. 110, n. 3, p. c145–c150, nov. 2008.
- CLARK-PRICE, S. Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs and Corticosteroids. **Pain Management in Veterinary Practice**, p. 69–84, 31 dez. 2013.
- COURT, M. H. Feline drug metabolism and disposition: pharmacokinetic evidence for species differences and molecular mechanisms. **The Veterinary clinics of North America. Small animal practice**, v. 43, n. 5, p. 1–20, 2014.
- DE SALAZAR ALCALÁ, A. G. et al. Assessment of the efficacy of firocoxib (Previcox®) and

grapiprant (Galliprant®) in an induced model of acute arthritis in dogs. **BMC Veterinary Research**, v. 15, n. 1, 29 ago. 2019.

DUNCAN, B. et al. Guidelines for safe and effective use of NSAIDs in dogs. **Veterinary Therapeutics**, v. 6, n. 3, p. 237–251, 2005.

ELLIS, J. J. et al. Environmental enrichment choices of shelter cats. **Behavioural Processes**, v. 141, n. October 2016, p. 291–296, 2017.

EVANGELISTA, M. C. et al. Facial expressions of pain in cats: the development and validation of a Feline Grimace Scale. **Scientific Reports 2019 9:1**, v. 9, n. 1, p. 1–11, 13 dez. 2019.

FORSYTH, S. F.; GUILFORD, W. G.; PFEIFFER, D. U. Effect of NSAID administration on creatinine clearance in healthy dogs undergoing anaesthesia and surgery. **Journal of Small Animal Practice**, v. 41, n. 12, p. 547–550, 2000.

FULLERTON, J. N.; GILROY, D. W. Resolution of inflammation: a new therapeutic frontier. **Nature Reviews Drug Discovery 2016 15:8**, v. 15, n. 8, p. 551–567, 29 mar. 2016.

GATES, M. C. et al. Cross-sectional survey of anaesthesia and analgesia protocols used to perform routine canine and feline ovariohysterectomies. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 47, n. 1, p. 38–46, 1 jan. 2020.

GAYNOR, J. S.; MUIR, W. W. **Handbook of Veterinary Pain Management: Third Edition**. 3rd ed ed. St Louis: ELSEVIER: Mosby, 2014.

GIRAUDEL, J. M. et al. Development and validation of a new model of inflammation in the cat and selection of surrogate endpoints for testing anti-inflammatory drugs. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 28, n. 3, p. 275–285, 1 jun. 2005.

GIRAUDEL, J. M.; TOUTAIN, P. L.; LEES, P. Development of in vitro assays for the evaluation of cyclooxygenase inhibitors and predicting selectivity of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in cats. **American Journal of Veterinary Research**, v. 66, n. 4, p. 700–709, abr. 2005.

HANSEN, B. Analgesia for the Critically Ill Dog or Cat: An Update. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v.38, n. 6, p. 1353–1363, 2008.

HARLEY, L.; LANGSTON, C. Proteinuria in dogs and cats. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 53, n. 6, p. 631, jun. 2012.

HARVEY, J. W. et al. The Erythrocyte. In: **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. [s.l.] Elsevier, 2008. p. 173–240.

HUNT, J. R. et al. An analysis of the relative frequencies of reported adverse events associated with NSAID administration in dogs and cats in the United Kingdom. **Veterinary Journal**, v. 206, n. 2, p. 183–190, 2015.

IKI, T. et al. Relationships between scores of the feline temperament profile and behavioural and adrenocortical responses to a mild stressor in cats. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 132, n. 1–2, p. 71–80, 1 jun. 2011.

JI, R. R.; CHAMESSIAN, A.; ZHANG, Y. Q. Pain regulation by non-neuronal cells and inflammation. **Science**, v. 354, n. 6312, p. 572–577, 4 nov. 2016.

KAWABATA, A. Prostaglandin E2 and pain - An update. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 34, n. 8, p. 1170–1173, ago. 2011.

KAWAHARA, K. et al. **Prostaglandin E2-induced inflammation: Relevance of prostaglandin e receptors** *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids* Elsevier B.V., 1 abr. 2015.

KIRKBY SHAW, K.; RAUSCH-DERRA, L. C.; RHODES, L. Grapiprant: an EP4 prostaglandin receptor antagonist and novel therapy for pain and inflammation. **Veterinary medicine and science**, v. 2, n. 1, p. 3–9, fev. 2016.

LASCELLES, B. D. X. et al. Carprofen as an analgesic for postoperative pain in cats: Dose titration and assessment of efficacy in comparison to pethidine hydrochloride. **Journal of Small Animal Practice**, v. 36, n. 12, p. 535–541, dez. 1995.

LASCELLES, B. D. X. et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in cats: A review. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 34, n. 4, p. 228–250, 2007.

LASCELLES, B. D. X.; BUTTERWORTH, S. J.; WATERMAN, A. E. Postoperative analgesic and sedative effects of carprofen and pethidine in dogs. **Veterinary Record**, v. 134, n. 8, p. 187–191, 1994.

LEBKOWSKA-WIERUSZEWSKA, B. et al. Pharmacokinetics of grapiprant, a selective EP4 prostaglandin PGE2 receptor antagonist, after 2 mg/kg oral and IV administrations in cats. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 40, n. 6, p. e11–e15, 1 dez. 2017.

LEES, P. et al. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in species of veterinary interest. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 27, n. 6, p. 479–490, dez. 2004

LIN, C. R. et al. Prostaglandin E2 receptor EP4 contributes to inflammatory pain hypersensitivity. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 319, n. 3, p. 1096–1103, 1 dez. 2006.

LOMAS, A. L.; GRAUER, G. F. The Renal Effects of NSAIDs in Dogs. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 51, n. 3, p. 197–203, maio 2015.

MACPHAIL, C. Surgery of the reproductive and genital systems. In: FOSSUM, T. W. (Ed.). **Small Animal Surgery**. [s.l.] Elsevier Inc., 2013. p. 1619.

MASTROMARINO, M. et al. G-Protein Coupled Receptors Involved in the Resolution of Inflammation: Ligands and Therapeutic Perspectives. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 20, n. 20, p. 2090–2103, 19 jul. 2020.

MCLEAN, M. K.; KHAN, S. A. Toxicology of Frequently Encountered Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs in Dogs and Cats. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 48, n. 6, p. 969–984, 1 nov. 2018.

MONTEIRO-STEAGALL, B. P.; STEAGALL, P. V. M.; LASCELLES, B. D. X. Systematic

Review of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drug-Induced Adverse Effects in Dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 27, n. 5, p. 1011–1019, 1 set. 2013.

MONTEIRO, B.; STEAGALL, P. V. Antiinflammatory Drugs. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 49, n. 6, p. 993–1011, 1 nov. 2019.

NAGAHISA, A.; OKUMURA, T. Pharmacology of grapiprant, a novel EP4 antagonist: receptor binding, efficacy in a rodent postoperative pain model, and a dose estimation for controlling pain in dogs. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 40, n. 3, p. 285–292, 1 jun. 2017.

NAKAO, K. et al. CJ-023,423, a novel, potent and selective prostaglandin EP4 receptor antagonist with antihyperalgesic properties. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 322, n. 2, p. 686–694, 2007.

NIU, X. et al. Precision cut intestinal slices are an appropriate ex vivo model to study NSAID-induced intestinal toxicity in rats. **Toxicology in Vitro**, v. 28, n. 7, p. 1296–1305, 2014.

OKUMURA, Y. et al. Discovery of AAT-008, a novel, potent, and selective prostaglandin EP4 receptor antagonist. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 27, n. 5, p. 1186–1192, 2017.

PALTRINIERI, S. The feline acute phase reaction. **Veterinary Journal**, v. 177, n. 1, p. 26–35, 2008.

PARTON et al. The pharmacokinetics and effects of intravenously administered carprofen and salicylate on gastrointestinal mucosa and selected biochemical measurements in healthy cats. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 23, n. 2, p. 73–79, abr. 2000.

PEREIRA, M. A. et al. Cyclooxygenases 1 and 2 inhibition and analgesic efficacy of dipyrone at different doses or meloxicam in cats after ovariohysterectomy. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 48, n. 1, p. 7–16, 3 nov. 2021.

RAE, L. et al. Attitudes and practices of veterinarians in Australia to acute pain management in cats. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, p. 1098612X2110430, 20 set. 2021.

RAND, J. S. et al. Acute stress hyperglycemia in cats is associated with struggling and increased concentrations of lactate and norepinephrine. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 16, n. 2, p. 123–132, 2002.

RAUSCH-DERRA, L. C.; HUEBNER, M.; RHODES, L. Evaluation of the safety of long-term, daily oral administration of grapiprant, a novel drug for treatment of osteoarthritic pain and inflammation, in healthy dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 76, n. 10, p. 853–859, 1 out. 2015.

RAUSCH-DERRA, L. C.; RHODES, L. Safety and toxicokinetic profiles associated with daily oral administration of grapiprant, a selective antagonist of the prostaglandin E2 EP4 receptor, to cats. **American Journal of Veterinary Research**, v. 77, n. 7, p. 688–692, 1 jul. 2016.

RAUSCH-DERRA, L. et al. A Prospective, Randomized, Masked, Placebo-Controlled Multisite Clinical Study of Grapiprant, an EP4 Prostaglandin Receptor Antagonist (PRA), in Dogs with Osteoarthritis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 30, n. 3, p. 756–763,

13 maio 2016.

REID, J. et al. Definitive Glasgow acute pain scale for cats: validation and intervention level. **Veterinary Record**, p. 1–5, 2017.

REYNOLDS, A. et al. Oxidative Stress and the Pathogenesis of Neurodegenerative Disorders. . 2007, p. 297–325.

ROBERTSON-PLOUCH, C. et al. A randomized clinical efficacy study targeting mPGES1 or EP4 in dogs with spontaneous osteoarthritis. **Science Translational Medicine**, v. 11, n. 516, p. 9993, 30 out. 2019.

ROBERTSON, S. A. Managing Pain in Feline Patients. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 38, n. 6, p. 1267–1290, 1 nov. 2008.

SARTINI, I.; GIORGI, M. Grapiprant: A snapshot of the current knowledge. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 44, n. 5, p. 679–688, 31 maio 2021.

SCHOLZ, J.; WOOLF, C. J. Can we conquer pain? **Nature Neuroscience** 2002 5:11, v. 5, n. 11, p. 1062–1067, 28 out. 2002.

SLINGSBY, L. S.; WATERMAN-PEARSON, A. E. Postoperative analgesia in the cat after ovariohysterectomy by use of carprofen, ketoprofen, meloxicam or tolfenamic acid. **Journal of Small Animal Practice**, v. 41, n. 10, p. 447–450, out. 2000.

SLINGSBY, L. S.; WATERMAN-PEARSON, A. E. Comparison between meloxicam and carprofen for postoperative analgesia after feline ovariohysterectomy. **Journal of Small Animal Practice**, v. 43, n. 7, p. 286–289, jul. 2002.

ST-JACQUES, B.; MA, W. Prostaglandin E2/EP4 signalling facilitates EP4 receptor externalization in primary sensory neurons in vitro and in vivo. **Pain**, v. 154, n. 2, p. 313–323, 2013.

ST-JACQUES, B.; MA, W. Peripheral prostaglandin E2 prolongs the sensitization of nociceptive dorsal root ganglion neurons possibly by facilitating the synthesis and anterograde axonal trafficking of EP4 receptors. **Experimental Neurology**, v. 261, p. 354–366, 1 nov. 2014.

STEAGALL, P. V. M. et al. Evaluation of the adverse effects of subcutaneous carprofen over six days in healthy cats. **Research in Veterinary Science**, v. 86, n. 1, p. 115–120, fev. 2009a.

STEAGALL, P. V. M. et al. Analgesia for cats after ovariohysterectomy with either buprenorphine or carprofen alone or in combination. **Veterinary Record**, v. 164, n. 12, p. 359–363, 21 mar. 2009b.

STEAGALL, P. V. **Analgesia: What Makes Cats Different/Challenging and What Is Critical for Cats?** **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice** W.B. Saunders, , 1 jul. 2020.

SUGIMOTO, Y.; NARUMIYA, S. Prostaglandin E Receptors. **THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY**, v. 282, n. 16, p. 11613–11617, 2007.

TAYLOR, P. M. et al. Pharmacodynamics and enantioselective pharmacokinetics of carprofen

in the cat. **Research in Veterinary Science**, v. 60, n. 2, p. 144–151, 1996.

TAYLOR, P. M. et al. Carprofen and buprenorphine prevent hyperalgesia in a model of inflammatory pain in cats. **Research in Veterinary Science**, v. 83, n. 3, p. 369–375, 1 dez. 2007.

VAN BEUSEKOM, C. D.; FINK-GREMMELS, J.; SCHRICKX, J. A. Comparing the glucuronidation capacity of the feline liver with substrate-specific glucuronidation in dogs. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 37, n. 1, p. 18–24, 2014.

WANG, B. et al. Metabolism pathways of arachidonic acids: mechanisms and potential therapeutic targets. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 6, n. 1, p. 1–30, 1 dez. 2021.

6 CONCLUSÃO

Apesar de os parâmetros hematológicos, bioquímicos e de urinálise terem sido comparáveis entre os tratamentos, mesmo com a administração de grapiprant duas vezes ao dia, os resultados desta pesquisa refutam a hipótese de que a analgesia promovida por este fármaco é similar àquela do carprofeno sob as condições álgicas impostas neste estudo. Desse modo, o grapiprant não foi eficaz em promover analgesia pós-operatória adequada em gatos submetidos à OVH em comparação ao carprofeno e não foram observados benefícios com a administração de grapiprant a cada 12 horas.

7 REFERÊNCIAS

ALVES, A. E. et al. Leucogram and serum acute phase protein concentrations in queens submitted to conventional or videolaparoscopic ovariectomy. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 1, p. 86–91, fev. 2010.

BACCHI, S. et al. Clinical Pharmacology of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs: A Review. **Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry**, v. 11, n. 1, p. 52–64, 1 set. 2012.

BALMER, T. V. et al. Comparison of carprofen and pethidine as postoperative analgesics in the cat. **Journal of Small Animal Practice**, v. 39, n. 4, p. 158–164, abr. 1998.

BERGH, M. S.; BUDSBERG, S. C. The Coxib NSAIDs: Potential Clinical and Pharmacologic Importance in Veterinary Medicine. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 19, n. 5, p. 633–643, 1 set. 2005.

BRONDANI, J. T. et al. Validation of the English version of the UNESP-Botucatu multidimensional composite pain scale for assessing postoperative pain in cats. **BMC Veterinary Research**, v. 9, n. 1, p. 143, 17 jul. 2013.

BUDSBERG, S. C. et al. Comparison of two inhibitors of E-type prostanoid receptor four and carprofen in dogs with experimentally induced acute synovitis. **American journal of veterinary research**, v. 80, n. 11, p. 1001–1006, 1 nov. 2019.

CASTLEBERRY, T. A. et al. Molecular cloning and functional characterization of the canine prostaglandin E2 receptor EP4 subtype. **Prostaglandins and Other Lipid Mediators**, v. 65, n. 4, p. 167–187, 1 jul. 2001.

CHALIFOUX, N. V. et al. Evaluation of renal and hepatic blood value screening before non-steroidal anti-inflammatory drug administration in dogs. **Journal of Small Animal Practice**, v. 62, n. 1, p. 12–18, 1 jan. 2021.

CHANDRASEKHAR, S. et al. Analgesic and anti-inflammatory properties of novel, selective, and potent EP4 receptor antagonists. **Pharmacology Research & Perspectives**, v. 5, n. 3, p. e00316, 1 jun. 2017.

CHAPMAN, C. R.; TUCKETT, R. P.; SONG, C. W. Pain and Stress in a Systems Perspective: Reciprocal Neural, Endocrine, and Immune Interactions. **The Journal of Pain**, v. 9, n. 2, p. 122–145, fev. 2008.

CHAWLA, L. S. et al. Urinary Sediment Cast Scoring Index for Acute Kidney Injury: A Pilot Study. **Nephron Clinical Practice**, v. 110, n. 3, p. c145–c150, nov. 2008.

CLARK-PRICE, S. Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs and Corticosteroids. **Pain Management in Veterinary Practice**, p. 69–84, 31 dez. 2013.

COURT, M. H. Feline drug metabolism and disposition: pharmacokinetic evidence for species differences and molecular mechanisms. **The Veterinary clinics of North America. Small animal practice**, v. 43, n. 5, p. 1–20, 2014.

DE SALAZAR ALCALÁ, A. G. et al. Assessment of the efficacy of firocoxib (Previcox®) and grapiprant (Galliprant®) in an induced model of acute arthritis in dogs. **BMC Veterinary Research**, v. 15, n. 1, 29 ago. 2019.

DUNCAN, B. et al. Guidelines for safe and effective use of NSAIDs in dogs. **Veterinary Therapeutics**, v. 6, n. 3, p. 237–251, 2005.

ELLIS, J. J. et al. Environmental enrichment choices of shelter cats. **Behavioural Processes**, v. 141, n. October 2016, p. 291–296, 2017.

EVANGELISTA, M. C. et al. Facial expressions of pain in cats: the development and validation of a Feline Grimace Scale. **Scientific Reports 2019 9:1**, v. 9, n. 1, p. 1–11, 13 dez. 2019.

FORSYTH, S. F.; GUILFORD, W. G.; PFEIFFER, D. U. Effect of NSAID administration on creatinine clearance in healthy dogs undergoing anaesthesia and surgery. **Journal of Small Animal Practice**, v. 41, n. 12, p. 547–550, 2000.

FULLERTON, J. N.; GILROY, D. W. Resolution of inflammation: a new therapeutic frontier. **Nature Reviews Drug Discovery 2016 15:8**, v. 15, n. 8, p. 551–567, 29 mar. 2016.

GATES, M. C. et al. Cross-sectional survey of anaesthesia and analgesia protocols used to perform routine canine and feline ovariohysterectomies. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 47, n. 1, p. 38–46, 1 jan. 2020.

GAYNOR, J. S.; MUIR, W. W. **Handbook of Veterinary Pain Management: Third Edition**. 3rd ed ed. St Louis: ELSEVIER: Mosby, 2014.

GIRAUDEL, J. M. et al. Development and validation of a new model of inflammation in the cat and selection of surrogate endpoints for testing anti-inflammatory drugs. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 28, n. 3, p. 275–285, 1 jun. 2005.

GIRAUDEL, J. M.; TOUTAIN, P. L.; LEES, P. Development of in vitro assays for the evaluation of cyclooxygenase inhibitors and predicting selectivity of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in cats. **American Journal of Veterinary Research**, v. 66, n. 4, p. 700–709, abr. 2005.

HANSEN, B. Analgesia for the Critically Ill Dog or Cat: An Update. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 38, n. 6, p. 1353–1363, 2008.

HARLEY, L.; LANGSTON, C. Proteinuria in dogs and cats. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 53, n. 6, p. 631, jun. 2012.

HARVEY, J. W. et al. The Erythrocyte. In: **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. [s.l.] Elsevier, 2008. p. 173–240.

HUNT, J. R. et al. An analysis of the relative frequencies of reported adverse events associated with NSAID administration in dogs and cats in the United Kingdom. **Veterinary Journal**, v. 206, n. 2, p. 183–190, 2015.

IKI, T. et al. Relationships between scores of the feline temperament profile and behavioural and adrenocortical responses to a mild stressor in cats. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 132, n. 1–2, p. 71–80, 1 jun. 2011.

JI, R. R.; CHAMESSIAN, A.; ZHANG, Y. Q. Pain regulation by non-neuronal cells and inflammation. **Science**, v. 354, n. 6312, p. 572–577, 4 nov. 2016.

KAWABATA, A. Prostaglandin E2 and pain - An update. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 34, n. 8, p. 1170–1173, ago. 2011.

KAWAHARA, K. et al. Prostaglandin E2-induced inflammation: Relevance of prostaglandin e receptors. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1851, n. 4, p. 414–421, 1 abr. 2015.

KIRKBY SHAW, K.; RAUSCH-DERRA, L. C.; RHODES, L. Grapiprant: an EP4 prostaglandin receptor antagonist and novel therapy for pain and inflammation. **Veterinary medicine and science**, v. 2, n. 1, p. 3–9, fev. 2016.

LASCELLES, B. D. X. et al. Carprofen as an analgesic for postoperative pain in cats: Dose titration and assessment of efficacy in comparison to pethidine hydrochloride. **Journal of Small Animal Practice**, v. 36, n. 12, p. 535–541, dez. 1995.

LASCELLES, B. D. X. et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in cats: A review. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 34, n. 4, p. 228–250, 2007.

LASCELLES, B. D. X.; BUTTERWORTH, S. J.; WATERMAN, A. E. Postoperative analgesic and sedative effects of carprofen and pethidine in dogs. **Veterinary Record**, v. 134, n. 8, p. 187–191, 1994.

LEBKOWSKA-WIERUSZEWSKA, B. et al. Pharmacokinetics of grapiprant, a selective EP4 prostaglandin PGE2 receptor antagonist, after 2 mg/kg oral and IV administrations in cats. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 40, n. 6, p. e11–e15, 1 dez. 2017.

LEES, P. et al. **Pharmacodynamics and pharmacokinetics of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in species of veterinary interest.** Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics. **Anais...J Vet Pharmacol Ther**, dez. 2004

LIN, C. R. et al. Prostaglandin E2 receptor EP4 contributes to inflammatory pain hypersensitivity. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 319, n. 3, p. 1096–1103, 1 dez. 2006.

LOMAS, A. L.; GRAUER, G. F. The Renal Effects of NSAIDs in Dogs. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 51, n. 3, p. 197–203, maio 2015.

MACPHAIL, C. Surgery of the reproductive and genital systems. In: FOSSUM, T. W. (Ed.). **Small Animal Surgery**. [s.l.] Elsevier Inc., 2013. p. 1619.

MASTROMARINO, M. et al. G-Protein Coupled Receptors Involved in the Resolution of Inflammation: Ligands and Therapeutic Perspectives. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 20, n. 20, p. 2090–2103, 19 jul. 2020.

MCLEAN, M. K.; KHAN, S. A. Toxicology of Frequently Encountered Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs in Dogs and Cats. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 48, n. 6, p. 969–984, 1 nov. 2018.

MONTEIRO-STEAGALL, B. P.; STEAGALL, P. V. M.; LASCELLES, B. D. X. Systematic Review of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drug-Induced Adverse Effects in Dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 27, n. 5, p. 1011–1019, 1 set. 2013.

MONTEIRO, B.; STEAGALL, P. V. Antiinflammatory Drugs. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 49, n. 6, p. 993–1011, 1 nov. 2019.

NAGAHISA, A.; OKUMURA, T. Pharmacology of grapiprant, a novel EP4 antagonist: receptor binding, efficacy in a rodent postoperative pain model, and a dose estimation for controlling pain in dogs. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 40, n. 3, p. 285–292, 1 jun. 2017.

NAKAO, K. et al. CJ-023,423, a novel, potent and selective prostaglandin EP4 receptor antagonist with antihyperalgesic properties. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 322, n. 2, p. 686–694, 2007.

NIU, X. et al. Precision cut intestinal slices are an appropriate ex vivo model to study NSAID-induced intestinal toxicity in rats. **Toxicology in Vitro**, v. 28, n. 7, p. 1296–1305, 2014.

OKUMURA, Y. et al. Discovery of AAT-008, a novel, potent, and selective prostaglandin EP4 receptor antagonist. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 27, n. 5, p. 1186–1192, 2017.

PALTRINIERI, S. **The feline acute phase reaction** *Veterinary Journal*, 2008.

PARTON et al. The pharmacokinetics and effects of intravenously administered carprofen and salicylate on gastrointestinal mucosa and selected biochemical measurements in healthy cats. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 23, n. 2, p. 73–79, abr. 2000.

PEREIRA, M. A. et al. Cyclooxygenases 1 and 2 inhibition and analgesic efficacy of dipyron at different doses or meloxicam in cats after ovariohysterectomy. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 48, n. 1, p. 7–16, 3 nov. 2021.

RAE, L. et al. Attitudes and practices of veterinarians in Australia to acute pain management in cats. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, p. 1098612X2110430, 20 set. 2021.

RAND, J. S. et al. Acute stress hyperglycemia in cats is associated with struggling and increased concentrations of lactate and norepinephrine. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 16, n. 2, p. 123–132, 2002.

RAUSCH-DERRA, L. C.; HUEBNER, M.; RHODES, L. Evaluation of the safety of long-term, daily oral administration of grapiprant, a novel drug for treatment of osteoarthritic pain and inflammation, in healthy dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 76, n. 10, p. 853–859, 1 out. 2015.

RAUSCH-DERRA, L. C.; RHODES, L. Safety and toxicokinetic profiles associated with daily oral administration of grapiprant, a selective antagonist of the prostaglandin E2 EP4 receptor, to cats. **American Journal of Veterinary Research**, v. 77, n. 7, p. 688–692, 1 jul. 2016.

RAUSCH-DERRA, L. et al. A Prospective, Randomized, Masked, Placebo-Controlled Multisite Clinical Study of Grapiprant, an EP 4 Prostaglandin Receptor Antagonist (PRA), in Dogs with Osteoarthritis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 30, n. 3, p. 756–763, 13 maio 2016.

REID, J. et al. Definitive Glasgow acute pain scale for cats: validation and intervention level. **Veterinary Record**, p. 1–5, 2017.

REYNOLDS, A. et al. Oxidative Stress and the Pathogenesis of Neurodegenerative Disorders. . 2007, p. 297–325.

ROBERTSON-PLOUCH, C. et al. A randomized clinical efficacy study targeting mPGES1 or EP4 in dogs with spontaneous osteoarthritis. **Science Translational Medicine**, v. 11, n. 516, p. 9993, 30 out. 2019.

ROBERTSON, S. A. Managing Pain in Feline Patients. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 38, n. 6, p. 1267–1290, 1 nov. 2008.

SARTINI, I.; GIORGI, M. Grapiprant: A snapshot of the current knowledge. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 44, n. 5, p. 679–688, 31 maio 2021.

SCHOLZ, J.; WOOLF, C. J. Can we conquer pain? **Nature Neuroscience** 2002 **5:11**, v. 5, n. 11, p. 1062–1067, 28 out. 2002.

SLINGSBY, L. S.; WATERMAN-PEARSON, A. E. Postoperative analgesia in the cat after ovariohysterectomy by use of carprofen, ketoprofen, meloxicam or tolfenamic acid. **Journal of Small Animal Practice**, v. 41, n. 10, p. 447–450, out. 2000.

SLINGSBY, L. S.; WATERMAN-PEARSON, A. E. Comparison between meloxicam and carprofen for postoperative analgesia after feline ovariohysterectomy. **Journal of Small Animal Practice**, v. 43, n. 7, p. 286–289, jul. 2002.

ST-JACQUES, B.; MA, W. Prostaglandin E2/EP4 signalling facilitates EP4 receptor externalization in primary sensory neurons in vitro and in vivo. **Pain**, v. 154, n. 2, p. 313–323, 2013.

ST-JACQUES, B.; MA, W. Peripheral prostaglandin E2 prolongs the sensitization of nociceptive dorsal root ganglion neurons possibly by facilitating the synthesis and anterograde axonal trafficking of EP4 receptors. **Experimental Neurology**, v. 261, p. 354–366, 1 nov. 2014.

STEAGALL, P. V. M. et al. Evaluation of the adverse effects of subcutaneous carprofen over six days in healthy cats. **Research in Veterinary Science**, v. 86, n. 1, p. 115–120, fev. 2009a.

STEAGALL, P. V. M. et al. Analgesia for cats after ovariohysterectomy with

either buprenorphine or carprofen alone or in combination. **Veterinary Record**, v. 164, n. 12, p. 359–363, 21 mar. 2009b.

STEAGALL, P. V. **Analgesia: What Makes Cats Different/Challenging and What Is Critical for Cats?** **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice** W.B. Saunders, , 1 jul. 2020.

SUGIMOTO, Y.; NARUMIYA, S. Prostaglandin E Receptors. **THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY**, v. 282, n. 16, p. 11613–11617, 2007.

TAYLOR, P. M. et al. Pharmacodynamics and enantioselective pharmacokinetics of carprofen in the cat. **Research in Veterinary Science**, v. 60, n. 2, p. 144–151, 1996.

TAYLOR, P. M. et al. Carprofen and buprenorphine prevent hyperalgesia in a model of inflammatory pain in cats. **Research in Veterinary Science**, v. 83, n. 3, p. 369–375, 1 dez. 2007.

VAN BEUSEKOM, C. D.; FINK-GREMMELS, J.; SCHRICKX, J. A. Comparing the glucuronidation capacity of the feline liver with substrate-specific glucuronidation in dogs. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 37, n. 1, p. 18–24, 2014.

WANG, B. et al. **Metabolism pathways of arachidonic acids: mechanisms and potential therapeutic targets** **Signal Transduction and Targeted Therapy** Springer Nature, , 1 dez. 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41392-020-00443-w>>. Acesso em: 11 maio. 2021

ANEXO A – Escala Multidimensional da Unesp-Botucatu para Avaliação de Dor Aguda Pós-Operatória em Gatos (EUNESP)

Subescala 1: ALTERAÇÃO PSICOMOTORA (0 – 15)		
Postura	<ul style="list-style-type: none"> • O gato está em uma postura considerada natural para a espécie e com seus músculos relaxados (ele se movimenta normalmente). 	0
	<ul style="list-style-type: none"> • O gato está em uma postura considerada natural para a espécie, porém seus músculos estão tensos (ele se movimenta pouco ou está relutante em se mover). 	1
	<ul style="list-style-type: none"> • O gato está sentado ou em decúbito esternal com suas costas arqueadas e cabeça abaixada; ou o gato está em decúbito dorsolateral com seus membros pélvicos estendidos ou contraídos. 	2
	<ul style="list-style-type: none"> • O gato altera frequentemente sua posição corporal na tentativa de encontrar uma postura confortável. 	3
Conforto	<ul style="list-style-type: none"> • O gato está confortável, acordado ou adormecido, e receptivo quando estimulado (ele interage com o observador e/ou se interessa pelos arredores). 	0
	<ul style="list-style-type: none"> • O gato está quieto e pouco receptivo quando estimulado (ele interage pouco com o observador e/ou não se interessa muito pelos arredores). 	1
	<ul style="list-style-type: none"> • O gato está quieto e “dissociado do ambiente” (mesmo se estimulado ele não interage com o observador e/ou não se interessa pelos arredores). O gato pode estar voltado para o fundo da gaiola. 	2
	<ul style="list-style-type: none"> • O gato está desconfortável, inquieto (altera frequentemente a sua posição corporal) e “dissociado do ambiente” ou pouco receptivo quando estimulado. O gato pode estar voltado para o fundo da gaiola. 	3
Atividade	<ul style="list-style-type: none"> • O gato se movimenta normalmente (se mobiliza prontamente quando a gaiola é aberta; fora da gaiola se movimenta de forma espontânea após estímulo ou manipulação). 	0
	<ul style="list-style-type: none"> • O gato se movimenta mais que o normal (dentro da gaiola ele se move continuamente de um lado a outro). 	1
	<ul style="list-style-type: none"> • O gato está mais quieto que o normal (pode hesitar em sair da gaiola e se retirado tende a retornar; fora da gaiola se movimenta um pouco após estímulo ou manipulação). 	2
	<ul style="list-style-type: none"> • O gato está relutante em se mover (pode hesitar em sair da gaiola e se retirado tende a retornar; fora da gaiola não se movimenta mesmo após estímulo ou manipulação). 	3
Atitude	<p>Observe e assinale a presença dos estados mentais listados abaixo:</p> <p>A - Satisfeito: O gato está alerta e interessado no ambiente (explora os arredores); amigável e interagindo com o observador (brinca e/ou responde a estímulos). * O gato pode inicialmente interagir com o observador por meio de brincadeiras para se distrair da dor. Observe com atenção para diferenciar distração, de brincadeiras de satisfação.</p> <p>B - Desinteressado: O gato não está interagindo com o observador (não se interessa por brincadeiras ou brinca um pouco; não responde aos chamados e carinhos do observador). * Nos gatos que não gostam de brincadeiras, avalie a interação com o observador pela resposta do gato aos chamados e carinhos.</p> <p>C - Indiferente: O gato não está interessado no ambiente (não está curioso; não explora os arredores). * O gato pode inicialmente ficar receoso em explorar os arredores. O observador deve manipular o gato (retirá-lo da gaiola e/ou alterar sua posição corporal) e encorajá-lo a se movimentar.</p> <p>D - Ansioso: O gato está assustado (tenta se esconder ou escapar) ou nervoso (demonstra impaciência e geme ou rosna ou sibila ao ser acariciado e/ou quando manipulado).</p> <p>E - Agressivo: O gato está agressivo (tenta morder ou arranhar ao ser acariciado e/ou quando manipulado).</p>	A
	<ul style="list-style-type: none"> • Presença do estado mental A. 	0
	<ul style="list-style-type: none"> • Presença de um dos estados mentais B, C, D ou E. 	1
	<ul style="list-style-type: none"> • Presença de dois dos estados mentais B, C, D ou E. 	2
	<ul style="list-style-type: none"> • Presença de três ou de todos os estados mentais B, C, D ou E. 	3

Miscelânea de comportamentos	Observe e assinale a presença dos comportamentos listados abaixo: A - O gato está deitado e quieto, porém movimentando a cauda. B - O gato está contraindo e estendendo os membros pélvicos e/ou o gato está contraindo os músculos abdominais (flanco). C - O gato está com os olhos parcialmente fechados (olhos semicerrados). D - O gato está lambendo e/ou mordendo a ferida cirúrgica.	A
		B
		C
		D
	<ul style="list-style-type: none"> • Todos os comportamentos acima descritos estão ausentes. • Presença de um dos comportamentos acima descritos. • Presença de dois dos comportamentos acima descritos. • Presença de três ou de todos os comportamentos acima descritos. 	0 1 2 3
Subescala 2: PROTEÇÃO DA ÁREA DOLOROSA (0 – 6)		
Reação à palpação da ferida cirúrgica	• O gato não reage quando a ferida cirúrgica é tocada e quando pressionada; ou não altera a sua resposta pré-operatória (se avaliação basal foi realizada).	0
	• O gato não reage quando a ferida cirúrgica é tocada, porém ele reage quando pressionada, podendo vocalizar e/ou tentar morder.	1
	• O gato reage quando a ferida cirúrgica é tocada e quando pressionada, podendo vocalizar e/ou tentar morder.	2
	• O gato reage quando o observador se aproxima da ferida cirúrgica, podendo vocalizar e/ou tentar morder. O gato não permite a palpação da ferida cirúrgica.	3
Reação à palpação do abdome/flanco	• O gato não reage quando o abdome/flanco é tocado e quando pressionado; ou não altera a sua resposta pré-operatória (se avaliação basal foi realizada). O abdome/flanco não está tenso.	0
	• O gato não reage quando o abdome/flanco é tocado, porém ele reage quando pressionado. O abdome/flanco está tenso.	1
	• O gato reage quando o abdome/flanco é tocado e quando pressionado. O abdome/flanco está tenso.	2
	• O gato reage quando o observador se aproxima do abdome/flanco, podendo vocalizar e/ou tentar morder. O gato não permite a palpação do abdome/flanco.	3
Subescala 3: VARIÁVEIS FISIOLÓGICAS (0 – 6)		
Pressão arterial	• 0% a 15% acima do valor pré-operatório.	0
	• 16% a 29% acima do valor pré-operatório.	1
	• 30% a 45% acima do valor pré-operatório.	2
	• > 45% acima do valor pré-operatório.	3
Apetite	• O gato está comendo normalmente.	0
	• O gato está comendo mais que o normal.	1
	• O gato está comendo menos que o normal.	2
	• O gato não está interessado no alimento.	3
Subescala 4: EXPRESSÃO VOCAL DA DOR (0 – 3)		
Vocalização	• O gato está em silêncio; ou ronrona quando estimulado; ou mia interagindo com o observador; porém não rosna, geme ou sibila.	0
	• O gato ronrona espontaneamente (sem ser estimulado ou manipulado pelo observador).	1
	• O gato rosna ou geme ou sibila quando manipulado pelo observador (quando a sua posição corporal é alterada pelo observador).	2
	• O gato rosna ou geme ou sibila espontaneamente (sem ser estimulado e/ou manipulado pelo observador).	3
ESCORE TOTAL (0 – 30)		

ANEXO B – Escala Composta de Glasgow Adaptada para Felinos (EGLASGOW)

Choose the most appropriate expression from each section and total the scores to calculate the pain score for the cat. If more than one expression applies choose the higher score

LOOK AT THE CAT IN ITS CAGE:

Is it?

Question 1

Silent / purring / meowing	0
Crying / growling / groaning	1

Question 2

Relaxed	0
Licking lips	1
Restless/cowering at back of cage	2
Tense/crouched	3
Rigid/hunched	4

Question 3

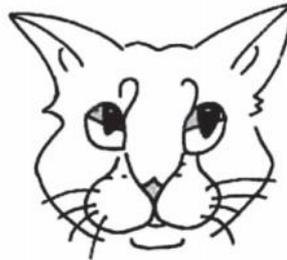
Ignoring any wound or painful area	0
Attention to wound	1

Question 4

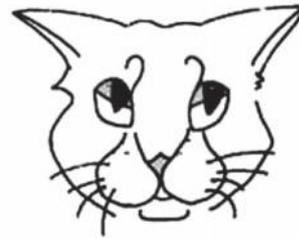
- a) Look at the following caricatures. Circle the drawing which best depicts the cat's ear position?



0



1



2

- b) Look at the shape of the muzzle in the following caricatures. Circle the drawing which appears most like that of the cat?



0



1



2

APPROACH THE CAGE, CALL THE CAT BY NAME & STROKE ALONG ITS BACK FROM HEAD TO TAIL

Question 5

Does it?		
Respond to stroking		0
Is it?		
Unresponsive		1
Aggressive		2

IF IT HAS A WOUND OR PAINFUL AREA, APPLY GENTLE PRESSURE 5 CM AROUND THE SITE. IN THE ABSENCE OF ANY PAINFUL AREA APPLY SIMILAR PRESSURE AROUND THE HIND LEG ABOVE THE KNEE

Question 6

Does it?		
Do nothing		0
Swish tail/flatten ears		1
Cry/hiss		2
Growl		3
Bite/lash out		4

Question 7

General impression		
Is the cat?		
Happy and content		0
Disinterested/quiet		1
Anxious/fearful		2
Dull		3
Depressed/grumpy		4

Pain Score ... /20

© Universities of Glasgow & Edinburgh Napier 2015. Licensed to NewMetrica Ltd. Permission granted to reproduce for personal and educational use only. To request any other permissions please contact jacky.reid@newmetrica.com.

ANEXO C – Certificado de aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais da
Universidade Federal de Santa Maria – CEUA/ UFSM



Comissão de Ética no Uso de Animais

da
Universidade Federal de Santa Maria

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Grapiprant, dipirona e carprofeno no pós-operatório de gatas submetidas à ovariectomia eletiva: avaliação analgésica, inflamatória e de estresse oxidativo", protocolada sob o CEUA nº 8735260121 (ID 003367), sob a responsabilidade de **André Vasconcelos Soares e equipe**; LUCIANA GONCALVES TEIXEIRA; Emerson Antonio Contesini; Paula Ivanir Schimites; Letícia Reginato Martins; Daniel Vargas; Emanuelle Bortolotto Degregori - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Maria (CEUA/UFSM) na reunião de 06/04/2021.

We certify that the proposal "Grapiprant, dipyrone and carprofen in the postoperative period of cats submitted to elective ovariectomy: analgesic, inflammatory and oxidative stress evaluation", utilizing 60 Cats (60 females), protocol number CEUA 8735260121 (ID 003367), under the responsibility of **André Vasconcelos Soares and team**; LUCIANA GONCALVES TEIXEIRA; Emerson Antonio Contesini; Paula Ivanir Schimites; Letícia Reginato Martins; Daniel Vargas; Emanuelle Bortolotto Degregori - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Santa Maria (CEUA/UFSM) in the meeting of 04/06/2021.

Finalidade da Proposta: [Pesquisa](#)

Vigência da Proposta: de [04/2021](#) a [03/2023](#)

Área: [Departamento de Clínica de Pequenos Animais](#)

Origem: [Não aplicável biotério](#)

Espécie: [Gatos](#)

sexo: [Fêmeas](#)

idade: [1 a 5 anos](#)

N: [60](#)

Linhagem: [diversas raças](#)

Peso: [2 a 5 kg](#)

Local do experimento: As cirurgias serão realizadas no Bloco 5 do HVU-UFSM. As gatas permanecerão internadas em um galil cadastrado no CIUCA (Cadastro das Instituições de Uso Científico de Animais) juntamente ao Laboratório de Cirurgia Experimental [] Bloco 5 do Hospital Veterinário Universitário da Universidade Federal de Santa Maria (HVU-UFSM), em gaiolas individuais de 1m³, e é designado para uso exclusivo em projetos científicos, sendo estes realizados de forma não concomitante. .

Santa Maria, 22 de julho de 2021

Prof. Dra. Patrícia Severo do Nascimento
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de Santa Maria

Prof. Dr. Saulo Tadeu Lemos Pinto Filho
Vice-Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de Santa Maria