



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

INTERACÇÕES FARMACOLÓGICAS EM REGIME HOSPITALAR DE CÃES E GATOS

ANA CRISTINA PEDRO CHAVES

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor José António Mestre Prates
Doutora Anabela de Sousa Santos da Silva
Moreira
Doutora Berta Maria Fernandes Ferreira São
Braz
Dr.^a Maria João Dinis da Fonseca

ORIENTADOR

Dr.^a Maria João Dinis da Fonseca

CO-ORIENTADOR

Doutora Berta Maria Fernandes Ferreira São
Braz

2011

LISBOA



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

INTERACÇÕES FARMACOLÓGICAS EM REGIME HOSPITALAR DE CÃES E GATOS

ANA CRISTINA PEDRO CHAVES

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor José António Mestre Prates
Doutora Anabela de Sousa Santos da Silva
Moreira
Doutora Berta Maria Fernandes Ferreira São
Braz
Dr.^a Maria João Dinis da Fonseca

ORIENTADOR

Dr.^a Maria João Dinis da Fonseca

CO-ORIENTADOR

Doutora Berta Maria Fernandes Ferreira São
Braz

2011

LISBOA

AGRADECIMENTOS

À Professora Doutora Berta São Braz por todo o apoio prestado durante o período de estágio e durante a execução da presente dissertação. Obrigada por acreditar nos seus alunos e por nos fazer acreditar que somos capazes.

À Dr.^a Maria João Dinis da Fonseca, minha orientadora e ao Dr. Jorge Cid, director clínico, pela amabilidade de me terem recebido e terem possibilitado a realização do meu estágio curricular no Hospital Veterinário do Restelo (HVR).

A todo o corpo clínico do HVR pelos conhecimentos transmitidos, pelo apoio e excelente companheirismo.

A todas as enfermeiras e auxiliares do HVR pela simpatia e disponibilidade.

Aos meus colegas estagiários, pela partilha de experiências, pela amizade e todos os bons momentos de convívio.

Aos meus colegas e eternos amigos de curso por tudo o que aturaram e por me fazerem sentir em casa, mesmo nos dias maus. Turma como a nossa jamais haverá. Trago-vos no coração.

Aos meus pais por terem feito de mim a pessoa que sou hoje. Não há palavras que cheguem para descrever o quão importantes são para mim.

Ao meu mano Nuno e à Patrícia por serem tão especiais e tão lindos.

Aos meus avós que, de uma maneira ou de outra, estão presentes todos os dias da minha vida.

Ao meu Bruno porque tudo isto é e sempre será por nós, porque sem o nós nada faria sentido.

Ao Pipoca, à Prima e à Pipa, por me fazerem ver o quão importante é ser-se Veterinário.

RESUMO

Interacções farmacológicas em regime hospitalar de cães e gatos

O recurso a protocolos terapêuticos múltiplos em Medicina Veterinária é, tal como na Medicina Humana, bastante frequente em regime hospitalar de cães e gatos, particularmente nos quadros de múltipla insuficiência orgânica. A ocorrência de reacções adversas e interacções farmacológicas torna-se, portanto, mais provável à medida que estes protocolos se tornam cada vez mais complexos. De um modo geral, as interacções farmacológicas podem agrupar-se em três tipos: interacções farmacêuticas, interacções farmacodinâmicas e interacções farmacocinéticas.

Apesar da relevância desta temática, existem ainda poucos estudos sobre a incidência de interacções farmacológicas no âmbito da prática clínica dos animais de companhia.

No entanto, o reconhecimento destas interacções é de extrema importância na prevenção de reacções adversas e do insucesso terapêutico.

O objectivo da presente dissertação consistiu na avaliação da possível ocorrência de interacções farmacológicas em canídeos e felídeos alvo de hospitalização, em regime intensivo ou não, através de um estudo observacional de 25 casos clínicos e análise detalhada dos respectivos protocolos terapêuticos instituídos. Desta análise, sustentada na literatura consultada, não resultou a observação de nenhuma interacção clinicamente relevante. Contudo, não se pode descartar a possibilidade de ocorrência de interacções na medida em que qualquer substância activa pode, em determinadas circunstâncias intrínsecas ou extrínsecas ao animal, apresentar potencial interactivo, quando administrada em simultâneo com outras substâncias.

Através da abordagem desta temática pretende-se, principalmente, a sensibilização de todos os profissionais de saúde para a importância do acto da prescrição farmacológica, bem como, a importância de mais pesquisa nesta área que permita o desenvolvimento de mais e melhores critérios de prescrição farmacológica.

Palavras-chave: interacções farmacológicas, regime hospitalar, cães, gatos, prescrição farmacológica

ABSTRACT

Pharmacological interactions in hospital regimen of dogs and cats

The use of multiple therapeutic protocols in Veterinary Medicine is, as in Human Medicine, very frequent in hospital regimen of dogs and cats, particularly in cases of multiple organic insufficiency. The occurrence of adverse reactions and pharmacological interactions become more probable as the therapeutic protocols becomes more complex. In a general way, the pharmacological interactions can be grouped in three types: pharmaceutical interactions, pharmacodynamic interactions and pharmacokinetic interactions.

Despite the relevance of this subject, there are still a few studies about the incidence of the pharmacological interactions under the clinical practice of companion animals.

However, the recognition of this interactions is of extreme relevance in the prevention of adverse reactions and of treatment failure.

The objective of this dissertation consisted in the research of pharmacological interactions in dogs and cats in hospital regimen, intensive or not, through an observational study of 25 clinic cases and detailed analysis of the therapeutic protocols instituted. Of this analysis, supported by the literature consulted, didn't result the observation of no relevant pharmacological interaction. However, we can't discard the possibility of occurrence of interactions as any active substance can, in particular intrinsic and extrinsic circumstances, present the ability to interact with other active substances administered simultaneously.

Through the approach of this subject we intended to sensitize all the professionals of this area to the importance of the act of pharmacological prescription and the importance of more research in this area that allow the development of more and better pharmacological prescription criteria.

Keywords: pharmacological interactions, hospital regimen, dogs, cats, pharmacological prescription

ÍNDICE GERAL

I. Introdução: descrição das actividades do estágio curricular.....	1
II. Monografia: Interações farmacológicas em regime hospitalar de cães e gatos.....	3
1. Interações farmacológicas: classificação e caracterização.....	3
1.1. Interações farmacocinéticas: o papel da metabolização hepática.....	5
1.1.1. Fase I da biotransformação hepática: sistema CYP450.....	6
1.1.1.1. Estrutura química e actividade catalítica.....	7
1.1.1.2. Nomenclatura da superfamília CYP450.....	9
1.1.1.3. Principais diferenças entre espécies.....	10
1.1.1.3.1. A subfamília CYP1A.....	12
1.1.1.3.2. A subfamília CYP2A.....	12
1.1.1.3.3. A subfamília CYP2B.....	13
1.1.1.3.4. A subfamília CYP2C.....	14
1.1.1.3.5. A subfamília CYP2D.....	15
1.1.1.3.6. A subfamília CYP2E.....	15
1.1.1.3.7. A subfamília CYP3A.....	16
1.1.1.4. Principais factores de regulação e variabilidade do sistema CYP450	17
1.1.1.4.1. Polimorfismo genético.....	17
1.1.1.4.2. Indução e inibição do CYP450.....	19
1.1.1.4.3. Expressão do CYP450 na doença hepática.....	21
1.1.2. Fase II da biotransformação hepática: glucuronidação.....	21
1.1.2.1. UGT's.....	22
1.2. Interações farmacocinéticas: o papel dos transportadores de membrana.....	24
1.2.1. Transportadores MDR-ABC.....	25
1.2.1.1. P-gp.....	26
1.2.1.1.1. Estrutura química e mecanismo de transporte.....	27
1.2.1.1.2. Distribuição tecidual: impacto na farmacocinética.....	29
1.2.1.1.3. Polimorfismo genético.....	31
1.2.1.1.4. Inibição e indução da P-gp.....	33
1.2.1.2. Proteínas MRP e BCRP: contribuição para o fenótipo	
multirresistência a fármacos e interações farmacocinéticas.....	35
1.2.2. Transportadores SLC.....	37

1.3. Previsibilidade das interacções farmacocinéticas: aplicação e caracterização de modelos <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i>	38
2. Incidência e prevenção das interacções farmacológicas	42
3. Interacções farmacológicas clinicamente relevantes no âmbito da clínica dos animais de companhia.....	45
3.1. Fármacos antimicrobianos: antibióticos e antimicóticos.....	45
3.2. Fármacos anti-inflamatórios não esteróides.....	47
3.3. Fármacos do aparelho digestivo: protectores da mucosa gástrica, modificadores da secreção gástrica e antieméticos.....	48
3.4. Fármacos antiepilépticos e anticonvulsivos: fenobarbital.....	49
3.5. Psicofármacos: antidepressivos tricíclicos, inibidores da monoaminoxidase e inibidores selectivos da recaptação da serotonina.....	49
3.6. Fármacos diuréticos: furosemida.....	50
III. Estudo retrospectivo de 25 casos de canídeos e felídeos em regime hospitalar: pesquisa de interacções farmacológicas clinicamente relevantes.....	51
1. Introdução e Objectivos.....	51
2. Metodologia aplicada e material utilizado.....	52
2.1. Recolha de informação durante o período de hospitalização e método de análise	52
2.2. Caracterização da população incluída no estudo	53
2.2.1. Distribuição dos animais pela espécie, género, idade e raça.....	53
3. Resultados.....	55
3.1. Principais motivos de hospitalização.....	55
3.1.1. Motivos de internamento com base no estímulo iatrotrópico e nos dados do exame físico.....	55
3.1.2. Motivos de internamento com base nos exames complementares de diagnóstico realizados.....	57
3.1.3. Motivo de internamento segundo a área clínica.....	61
3.2. Protocolos terapêuticos instituídos durante o período de hospitalização.....	61
4. Discussão.....	68
5. Conclusão.....	75
6. Bibliografia.....	76
ANEXOS.....	85

Anexo 1: Principais transportadores SLC de origem humana envolvidos em interações farmacocinéticas: substratos e inibidores.....	87
Anexo 2: Caracterização geral da população incluída no estudo.....	88
Anexo 3: Principais estímulos iatrotópicos/sinais clínicos registados no acto da consulta.....	89
Anexo 4: Principais alterações detectadas nos exames complementares de diagnóstico realizados durante o período de hospitalização.....	92
Anexo 5: Protocolos terapêuticos instituídos durante o período de hospitalização.....	107
Anexo 6: Cirurgias realizadas durante o período de hospitalização e respectivas pré-medicações.....	114

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Principais isoenzimas do CYP450 canino.....	20
Tabela 2: Principais fármacos substrato da P-gp.....	28
Tabela 3: Proteínas MRP e BCRP de origem humana: principais substratos e inibidores	37
Tabela 4: Canídeos/Felídeos - principais alterações hematológicas (1º dia de internamento)	58
Tabela 5: Canídeos/Felídeos - principais alterações bioquímicas (1º dia de internamento)	59
Tabela 6: Tipos de fluidoterapia instituídos nos canídeos e felídeos durante o período de hospitalização (frequência absoluta).....	62
Tabela 7: Canídeos - substâncias activas administradas por via sistémica durante o período de hospitalização (frequência absoluta).....	62
Tabela 8: Felídeos - substâncias activas administradas por via sistémica durante o período de hospitalização (frequência absoluta).....	63
Tabela 9: N.º de antibióticos prescrito por animal alvo de antibioterapia.....	65
Tabela 10: Substâncias activas utilizadas como pré-medicação cirúrgica.....	65
Tabela 11: Número total de substâncias activas administradas por animal durante o período de hospitalização.....	65
Tabela 12: Substâncias activas potencialmente interactivas e respectivas associações no total dos casos clínicos analisados.....	66

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Distribuição absoluta dos canídeos e felídeos da amostra por gênero.....	53
Gráfico 2: Distribuição absoluta dos machos e fêmeas pelo estado de fertilidade nos canídeos da amostra.....	54
Gráfico 3: Distribuição absoluta dos machos e fêmeas pelo estado de fertilidade nos felídeos da amostra.....	54
Gráfico 4: Distribuição absoluta dos canídeos e felídeos da amostra por idade.....	54
Gráfico 5: Canídeos - principais estímulos iatrotrópicos/sinais clínicos como motivo de internamento (frequência absoluta).....	55
Gráfico 6: Felídeos - principais estímulos iatrotrópicos/sinais clínicos como motivo de internamento (frequência absoluta).....	56
Gráfico 7: Canídeos/Felídeos - exames complementares de diagnóstico realizados no 1º dia de internamento (frequência absoluta).....	57
Gráfico 8: Canídeos - Motivo de internamento segundo a área clínica (frequência absoluta).....	61
Gráfico 9: Felídeos - Motivo de internamento segundo a área clínica (frequência absoluta).....	61
Gráfico 10: Canídeos - classes terapêuticas com maior número de prescrições (frequência absoluta).....	64
Gráfico 11: Felídeos - classes terapêuticas com maior número de prescrições (frequência absoluta).....	64

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Grupo prostético do CYP450.....	8
Figura 2: Principais transportadores de membrana de origem humana presentes na parede intestinal, no fígado, no rim e na barreira hemato-encefálica.....	25

ÍNDICE DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ABC	<i>ATP binding cassette</i>
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AhR	Receptor aril-hidrocarboneto (<i>Aryl-hydrocarbon receptor</i>)
AINE	Anti-inflamatório não esteróide
Al ³⁺	Alumínio
ARN	Ácido ribonucleico
ARNm	Ácido ribonucleico mensageiro
AUC	Área sob a curva (<i>area under the plasma concentration time curve</i>)
BCRP	<i>Breast cancer resistance protein</i>
Ca ²⁺	Cálcio
CAR	Receptor constitutivo androstano (<i>Constitutive androstane receptor</i>)
cMOAT	<i>Canalicular Multiple Organic Anion Transporter</i>
CNV	Variação no número de cópias de segmentos de ADN (<i>copy number variation</i>)
CYP450	Citocromo P450
CO	Monóxido de carbono
CO ₂	Dióxido de carbono
COOH	Grupo carboxilo
CR	Taxa de contribuição
ECG	Electrocardiograma
EM	Metabolizador extenso (<i>Extensive metabolizer</i>)
Ex.	Exemplo
FAD	Flavina adenina dinucleotídeo
Fe ²⁺	Lão ferroso
Fe ³⁺	Lão férrico
GABA	Ácido gama-aminobutírico (<i>Gamma-aminobutyric acid</i>)
GI	Gastrointestinal
H ₂ O	Água
5-HT	5-hidroxitriptamina
HVR	Hospital Veterinário do Restelo
IBD	<i>Inflammatory bowel disease</i>
ICC	Insuficiência cardíaca congestiva
IECA	Inibidor da enzima de conversão da angiotensina
IL	Interleucina
IM	Intramuscular
InDel	Inserção/deleção (<i>insert/deletion</i>)
INF-γ	Interferão-gama
IR	Taxa de inibição
IRC	Insuficiência renal crónica
ISRS's	Inibidores selectivos da recaptção da serotonina
IV	Intravenoso
K _i	Constante de dissociação do complexo enzima-inibidor
LLC-PK1	<i>Porcine kidney derived-renal epithelial cell line</i>
MATE	<i>Multidrug and toxin extrusion</i>
MDCK	<i>Madin-Darby canine kidney</i>
MDR	<i>Multidrug resistance</i>

MDR-ABC	<i>Multidrug resistance ATP binding cassette</i>
Mg ²⁺	Magnésio
mg/kg	Miligrama por quilograma
MFO	Oxidases de função mista (<i>Mixed-function oxidase</i>)
MRP	<i>Multidrug resistance associated protein</i>
Na ⁺	Sódio
NADH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
NBD	<i>Nucleotide binding domain</i>
NH ₂	Amina primária
NK	Células Natural killer (<i>Natural killer cell</i>)
nm	Nanómetro
O ₂	Oxigénio
OAT	Transportador de aniões orgânicos (<i>Organic anion transporter</i>)
OATP	Polipéptido transportador de aniões orgânicos (<i>Organic anion transporting polypeptide</i>)
OCT	Transportador de catiões orgânicos (<i>Organic cation transporter</i>)
OCTN	Transportador de zwitteriões/catiões (<i>Zwitterion/organic transporter</i>)
OH	Grupo hidroxilo
PEPT	Transportador de péptidos (<i>Peptide transporter</i>)
P-gp	Glicoproteína-P (<i>P-glycoprotein</i>)
PM	Metabolizador fraco (<i>Poor metabolizer</i>)
PO	<i>Per os</i>
PXR	Receptor X pregnano (<i>Pregnane X-receptor</i>)
RM	Ressonância magnética
SC	Subcutâneo
SH	Grupo tiol
SLC	<i>Solute-linked carrier</i>
SNC	Sistema nervoso central
SNP	Polimorfismo de base única (<i>single nucleotide polymorphism</i>)
sp.	“Uma espécie”
spp.	“Várias espécies”
TAC	Tomografia axial computadorizada
TMD	Domínio transmembranar
TNF-α	Factor de necrose tumoral-alfa (<i>tumor necrosis factor-alpha</i>)
TSA	Teste de sensibilidade a antibióticos
UDP	Uridina difosfato
UGT	UDP-glucuronosiltransferases
URM	Ultra-metabolizador (<i>Ultra-rapid metabolizer</i>)
VNTR	Número variável de repetições em tandem (<i>variable number of tandem repeats</i>)
Zn ²⁺	Zinco
µg/ml	Micrograma por mililitro

I. Introdução: descrição das actividades do estágio curricular

O estágio curricular, para finalização do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, foi realizado no Hospital Veterinário do Restelo (HVR), na área de clínica e cirurgia de animais de companhia sob a orientação científica da Dr.^a Maria João da Fonseca, no período de 1 de Outubro de 2009 a 28 de Fevereiro de 2010, excedendo largamente as 500 horas previstas no regulamento.

As actividades de estágio foram realizadas em diferentes períodos do dia, mediante a atribuição de um horário rotativo, que abrangia períodos diurnos, nocturnos, fins-de-semana e feriados, de modo a possibilitar o acompanhamento de todo o tipo de situações clínicas, tais como, urgências médicas e/ou cirúrgicas. Durante estes períodos, a autora frequentou as diversas áreas e serviços disponibilizados pelo HVR, nomeadamente, Medicina Interna, Internamento, Imagiologia e Cirurgia.

Na área de Medicina Interna, através do acompanhamento das consultas realizadas nas mais diversas áreas, foi possível a participação activa na elaboração da anamnese, realização do exame físico, elaboração de planos de diagnóstico e, eventualmente, instituição de terapêutica na sequência de todo o processo anterior. As referidas consultas dividiram-se em patologia clínica, imunoprofilaxia e outras intervenções, tais como, tratamentos e consultas de reavaliação clínica. Dentro da patologia clínica destacaram-se as áreas de Gastrenterologia, Estomatologia, Nefrologia/Urologia, Reprodução/Obstetrícia, Cardiologia, Pneumologia, Endocrinologia, Infecçiology, Oftalmologia, Oncologia, Neurologia, Ortopedia, Traumatologia, Toxicologia, entre outras.

As consultas de imunoprofilaxia foram realizadas nas espécies canina, felina e animais exóticos destacando-se, destes últimos, os lagomorfos.

Quer no âmbito das consultas, quer no âmbito do regime de internamento, ao qual inúmeros animais foram submetidos, foram realizados diversos procedimentos como, colheita de sangue para análises clínicas, venopunção para colocação de cateter e sistema de venoclise, medição da glicémia, drenagem de líquido de derrame torácico e abdominal, algaliação, realização de punções por agulha fina, limpeza de feridas, realização de pensos simples, pensos gordos e pensos de estabilização ortopédica, medição da pressão arterial, realização de electrocardiograma (ECG), entre diversos outros procedimentos, indispensáveis à monitorização do estado geral e obtenção de bem-estar.

A área de Imagiologia incidiu sobre os seguintes serviços: radiologia, mielografia, ecografia abdominal, ecocardiografia, endoscopia e electrorretinografia. Entre outros exames complementares de diagnóstico, destacaram-se as análises clínicas (hemograma, análises

bioquímicas sanguíneas e urianálise), urocultura, teste de sensibilidade a antibióticos (TSA), testes rápidos de diagnóstico, punção de medula óssea, biópsia, citologia, entre outros.

A área de cirurgia incluiu três tipos de intervenções: pequenas cirurgias, cirurgia de tecidos moles e cirurgia ortopédica. No bloco operatório, a autora teve a oportunidade de acompanhar os animais nos períodos peri e pós-operatório, participando na preparação do paciente para a cirurgia, preparando o material cirúrgico e os aparelhos de monitorização anestésica, monitorizando a anestesia, auxiliando durante a cirurgia e no recobro desta e efectuando as avaliações e cuidados pós-cirúrgicos. As cirurgias acompanhadas foram bastante diversificadas destacando-se, nas cirurgias dos tecidos moles, as cirurgias do tracto gastrointestinal pelo particular interesse da autora nesta área.

A realização do estágio curricular foi uma experiência única e indispensável para a consolidação dos conhecimentos teóricos adquiridos ao longo do percurso académico, possibilitando a aplicação prática dos mesmos. O local de estágio, pela elevada casuística nas mais diversas áreas foi fulcral neste processo de transição para a vida profissional.

O presente tema de Dissertação surgiu pelo interesse da autora na área de Farmacologia e pela relevância que esta assume na prática clínica do dia-a-dia, particularmente em regime de hospitalização, intensivo ou não.

II. Monografia: Interações farmacológicas em regime hospitalar de cães e gatos

1. Interações farmacológicas: classificação e caracterização

À semelhança da Medicina Humana, é comum na prática de clínica veterinária o uso simultâneo de diversas substâncias activas com vista à obtenção de determinado fim terapêutico, o que aumenta substancialmente o risco de ocorrência de interações farmacológicas e reacções adversas, sendo este, um aumento exponencial relativamente ao número de fármacos administrados. A incidência destes acontecimentos é mais conhecida em Medicina Humana do que em Medicina Veterinária, por um lado, devido ao menor número de fármacos administrados simultaneamente aos animais de companhia e por outro, ao menor número de casos reportados e de informação disponível. A verdade é que, com muita frequência, este tipo de realidade não é reconhecida pelos profissionais de saúde, assumindo-se os efeitos adversos de uma possível interacção farmacológica como secundários a um deterioramento da condição clínica do paciente e progressão da doença (Mealey, 2006).

Interacção farmacológica pode ser definida como a influência recíproca de um fármaco sobre outro, com alteração da intensidade dos seus efeitos farmacológicos, podendo esta alteração culminar em aumento ou diminuição do efeito de um ou de ambos os fármacos ou, até o aparecimento de um novo efeito que nenhum dos fármacos isoladamente seria capaz de produzir. Ou seja, a alteração pode culminar em adição, sinergismo ou antagonismo (Faculdade de Medicina da Universidade do Porto [FMUP], 2003). Por outro lado, as interações farmacológicas podem apresentar efeitos benéficos para o organismo, com aumento do efeito farmacológico ou redução da toxicidade de um determinado fármaco, ou efeitos nocivos para o mesmo, com redução da eficácia terapêutica e potenciação da toxicidade (Mealey, 2006).

O conceito de interacção farmacológica envolve não só a prescrição de fármacos pelo clínico mas, também, outras substâncias como alimentos, nutracêuticos, poluentes e produtos naturais utilizados em terapias alternativas (Mealey, 2006; Page & Maddison, 2008).

De um modo geral, as interações farmacológicas podem agrupar-se em três tipos: interações farmacêuticas, interações farmacodinâmicas e interações farmacocinéticas (Mealey, 2006; Page & Maddison, 2008).

As interações farmacêuticas ocorrem antes da administração, quando se associam fármacos com propriedades físico-químicas incompatíveis (em infusão intravenosa, frascos ou seringas). Assim, as interações físicas são aquelas que ocorrem com mudança de estado físico, como é o exemplo da precipitação de carbonato de cálcio (CaCO_3) quando a uma

solução de Lactato de Ringer (LR) se adiciona bicarbonato de sódio (NaHCO_3). As interacções químicas, por sua vez, são aquelas em que ocorre uma reacção química entre dois medicamentos, com formação de produtos de reacção diferentes dos intervenientes originais (Mealey, 2006).

As interacções farmacodinâmicas ocorrem principalmente nos locais de acção dos fármacos envolvendo os mecanismos pelos quais os efeitos desejados se processam e podendo culminar em acção aditiva, sinérgica ou antagónica. Se a acção for aditiva, o resultado final irá corresponder à soma dos efeitos individuais de ambos os fármacos; se a acção for sinérgica, o resultado final da interacção é potenciado, o que significa que é superior à soma dos efeitos individuais dos fármacos; no caso de a acção ser antagónica, os fármacos apresentam acções opostas, podendo actuar no mesmo local ou gerar esses efeitos opostos por mecanismos independentes (Mealey, 2006; Martín-Jiménez, 2010).

As interacções farmacocinéticas ocorrem quando uma substância activa altera a absorção, distribuição ou eliminação (metabolização e excreção) de outra, sendo diversos os mecanismos pelos quais os fármacos podem induzir alterações em cada um dos referidos processos do seu trajecto no organismo (Mealey, 2006; Martín-Jiménez, 2010).

A absorção de determinado fármaco pode ser aumentada, diminuída, acelerada ou retardada por outro que induza: alterações do pH do meio, dissolução do fármaco no meio em questão ou formação de complexos insolúveis não absorvíveis, alteração da motilidade gastrointestinal (GI) com alteração da velocidade do esvaziamento gástrico, alteração da actividade metabólica da flora microbiana intestinal, alteração do tónus da musculatura lisa intestinal e até mesmo da espessura e/ou vascularização da superfície de absorção da mucosa intestinal e competição pelos mecanismos de transporte intestinal, como a glicoproteína-P (P-gp) (Manzi & Shannon, 2005; Martín-Jiménez, 2010).

Relativamente ao processo de distribuição, este pode ser afectado por indução de alterações: no fluxo sanguíneo, na capacidade de ligação a proteínas plasmáticas e, ainda, na capacidade de ligação a proteínas tecidulares. Na maioria dos casos, o grau de saturação das proteínas plasmáticas é muito baixo relativamente à concentração sérica dos fármacos pelo que, as interacções envolvendo aumento da fracção livre dos fármacos por diminuição da ligação às proteínas plasmáticas, são raras, excepto se se verificar uma acentuada hipoproteinémia (Manzi & Shannon, 2005; Papich, 2007).

No que diz respeito ao processo de eliminação dos fármacos, as interacções farmacológicas envolvendo alteração da sua metabolização são relativamente comuns devido ao facto de a maioria dos fármacos sofrer biotransformação hepática, por intermédio de enzimas microssomais, das quais se destacam as enzimas do sistema citocromo P450 (CYP450), e pelo

facto de um número igualmente considerável de fármacos apresentar capacidade de inibição ou indução da actividade das enzimas deste complexo enzimático (Papich, 2007).

Quanto à excreção, as interacções entre fármacos podem alterar a velocidade de eliminação dos mesmos por qualquer uma das vias excretoras, sendo de salientar a alteração da excreção renal com aumento ou diminuição da filtração glomerular, da reabsorção tubular e da secreção tubular. A alteração da perfusão renal e até mesmo do pH urinário podem ser suficientes para alterar a excreção de determinada substância (Mealey, 2006; Page & Maddison, 2008).

1.1. Interacções farmacocinéticas: o papel da metabolização hepática

As interacções farmacocinéticas com maior significado clínico ocorrem ao nível da metabolização e é a esse nível que elas podem ser mais imprevisíveis e graves, sendo o impacto clínico destas interacções dependente do grau de modificação das concentrações séricas dos fármacos, bem como, dos respectivos índices terapêuticos (Levêque et al., 2010).

O fígado, pela particularidade da sua anatomia e composição histológica das suas células, das quais se destacam os hepatócitos, que representam mais de 70% do volume total deste órgão, é o principal interveniente na biotransformação dos fármacos, entre outros xenobióticos, sendo tão extraordinário e complexo nesta função como na sua capacidade de biossíntese (Tennant & Center, 2008). O citoplasma dos hepatócitos reflecte o grau de complexidade destas funções, sendo rico em organelas como o retículo endoplasmático rugoso, retículo endoplasmático liso, complexo de Golgi, ribossomas livres, mitocôndrias, lisossomas e peroxissomas, sendo o local de maior abundância e diversidade de enzimas de biotransformação (Junqueira & Carneiro, 1999).

A biotransformação é de extrema importância, “pois, se ela não ocorresse, o organismo seria um depósito de substâncias químicas estranhas por tempo indeterminado” (Oshima-Franco & Franco, 2003). De um modo geral, as reacções de biotransformação têm como principais objectivos: reduzir a semi-vida biológica dos xenobióticos, reduzir a duração da exposição do organismo aos mesmos e evitar a sua acumulação. A maioria dos xenobióticos que entra no organismo é lipofílica, uma propriedade que lhes permite penetrar nas membranas lipídicas e serem transportados por lipoproteínas nos fluidos orgânicos. A biotransformação, ao promover a conversão destes compostos numa forma mais solúvel em água, favorece, portanto, a sua eliminação embora, nalguns casos, os seus efeitos tóxicos só se façam sentir após o referido processo que constitui, assim, um meio de activação metabólica. Esta activação é igualmente necessária para que muitos fármacos exerçam o seu efeito terapêutico, caso dos chamados pró-fármacos (Meyer, 1996; Ramos, 1999). Contudo, no processo de

biotransformação, pode ocorrer produção de metabolitos intermediários altamente reactivos com capacidade de ligação a proteínas e ácidos nucleicos gerando citotoxicidade e genotoxicidade, por oposição à molécula mãe à qual o organismo foi originalmente exposto (Nebbia, 2001; Parkinson, 2001).

O processo de metabolização dos fármacos *in vivo* compreende esquematicamente duas fases: a fase I que visa a obtenção de compostos mais polares e hidrossolúveis por meio de reacções de oxidação, redução e hidrólise, nas quais ocorre introdução de um grupo funcional quimicamente reactivo na molécula (grupos hidroxilo (-OH), amina (-NH₂), tiol (-SH), carboxilo (-COOH)); e a fase II na qual as moléculas sofrem reacções de conjugação, como a glucuronidação, a sulfatação, a acetilação, a metilação, a conjugação com a glutathione, aminoácidos e ácidos gordos, o que proporciona um aumento mais significativo da polaridade e hidrossolubilidade das moléculas, facilitando a sua eliminação pelas vias renal e biliar (Parkinson, 2001; Tennant & Center, 2008). As reacções da fase II podem ser precedidas ou não pelas reacções da fase I e, excepcionalmente, moléculas conjugadas da fase II podem ser substrato para reacções catalisadas pelas enzimas da fase I (Parkinson, 2001).

As reacções da fase I são catalisadas por enzimas que compõem o sistema de oxidases de função mista (*mixed-function oxidase* - MFO) ou sistema CYP450, localizado nas membranas do retículo endoplasmático liso, ou fracção microssomal, das células de diversos tecidos e órgãos (fígado, pulmões, rins, pele, intestino, cérebro). Este sistema inclui os seguintes componentes: o CYP450, sistema enzimático primordial na catálise das reacções oxidativas, a flavoproteína nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH)-CYP450 redutase ou NADPH-citocromo C redutase e o grupo enzimático nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADH)-citocromo b₅ redutase (Nebbia, 2001; Oshima-Franco & Franco, 2003). Por oposição ao sistema MFO, as enzimas da fase II são maioritariamente solúveis e encontradas na fracção citosólica, exceptuando-se as uridina difosfato (UDP)-glucuronosiltransferases, designadas UGT's, localizadas na fracção microssomal. As reacções com maior prevalência são a glucuronidação (para compostos nucleofílicos), a sulfatação e a conjugação com a glutathione reduzida (para compostos electrofílicos) (Nebbia, 2001; Xu, Li & Kong, 2005).

1.1.1. Fase I da biotransformação hepática: sistema CYP450

O sistema CYP450 corresponde a um grande complexo enzimático de hemoproteínas presente em quase todos os organismos desde protistas, plantas e mamíferos, incluindo o Homem, estimando-se que o aparecimento do gene ancestral deste complexo tenha ocorrido há mais de 3,5 biliões de anos, antes da acumulação do oxigénio molecular na atmosfera (Glue &

Clement, 1999; Hasler et al., 1999). Este sistema foi primeiramente reconhecido por Martin Klingenberg, em 1958, após um estudo das propriedades espectrofotométricas da fracção microsomal hepática de rato, tendo observado a presença de um pigmento vermelho (que gerou a designação P) com uma absorvância máxima da radiação electromagnética a 450 nm, após redução dos microsomas por monóxido de carbono. Posteriormente, Omura e Sato descobriram que este pigmento se tratava de uma hemoproteína, levando à classificação destas hemoproteínas num grupo distinto, dado nenhuma outra, presente em mamíferos, apresentar um espectro de absorção igual (Kitteringham, Pirmohamed & Park, 1998; Hasler et al., 1999).

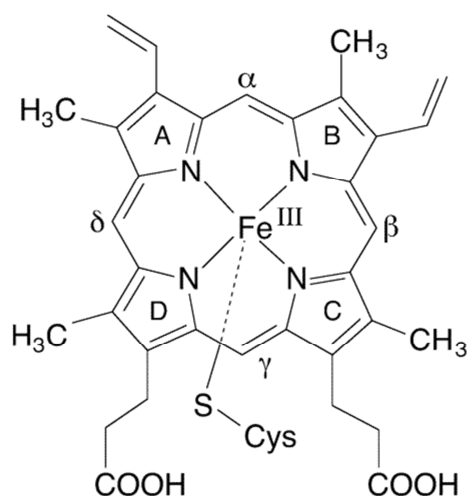
Foram já sequenciados mais de 1000 genes codificadores para diferentes isoformas destas hemoproteínas e identificados, pelo menos, 40 tipos diferentes de reacções catalíticas. Cada isoforma apresenta afinidade para uma ampla diversidade de substratos com diferentes estruturas químicas, sendo comum a sobreposição de especificidade para esses substratos pelas diferentes isoformas pelo que, a sua classificação de acordo com as reacções catalisadas, torna-se inapropriada. Estas isoformas são, portanto, classificadas em diferentes famílias e subfamílias de acordo com a similaridade estrutural na composição aminoacídica reflectindo, assim, a homologia dos genes correspondentes (Kitteringham et al., 1998; Hasler et al., 1999).

1.1.1.1. Estrutura química e actividade catalítica

Sendo um dos mais potentes sistemas enzimáticos do organismo, o CYP450 é, tal como referido, um dos intervenientes predominantes nas reacções oxidativas da fase I da biotransformação hepática, não só da grande maioria dos fármacos mas também de diversos outros compostos exógenos (produtos naturais, poluentes ambientais) e compostos endógenos (esteróides, ácidos biliares, prostaglandinas, vitaminas lipossolúveis, entre outros) (Glue & Clement, 1999).

Este complexo enzimático é constituído por hemoproteínas com uma composição de aproximadamente 500 aminoácidos por cadeia polipeptídica, cujo grupo prostético ou grupo heme integra um átomo de ferro (III), de posição central e inserido numa protoporfirina IX, e se encontra ligado covalentemente à enzima pelo átomo de enxofre de um resíduo proximal de cisteína (Hasler et al., 1999), como representado na figura 1. É esta zona central hidrofóbica do grupo prostético que constitui o local catalítico da hemoproteína, onde os substratos se ligam (Meunier, Visser & Shaik, 2004).

Figura 1: Grupo prostético do CYP450 (adaptado de Meunier et al., 2004).



As moléculas do CYP450 encontram-se ligadas aos fosfolípidos da membrana por um ou dois segmentos dos péptidos, com a parte do grupo heme contendo o átomo de ferro direccionada para a face citosólica da membrana e a parte do local catalítico direccionada para a face interna da membrana. A existência de dois canais de acesso para os substratos confere ao CYP450 a capacidade de metabolizar compostos hidrofílicos e hidrofóbicos (Park, Pirmohamed & Kitteringham, 1995).

O átomo de ferro do grupo prostético é capaz de estabelecer, no total, seis ligações: quatro são estabelecidas com os átomos de azoto dos anéis pirrólicos da protoporfirina, uma é estabelecida com o grupo -SH do resíduo de cisteína situado próximo à região C-terminal da cadeia polipeptídica da hemoproteína e uma sexta ligação pode ser estabelecida com moléculas de água (H₂O), de monóxido de carbono (CO) ou de oxigénio molecular (O₂) (Parkinson, 2001). O grupo -SH nucleofílico do resíduo de cisteína é o responsável por manter o átomo de ferro no estado férrico (Fe³⁺), ligado a uma molécula de H₂O, e a sua presença determina a elevada afinidade do CYP450 para moléculas de CO ou O₂, quando no estado ferroso (Fe²⁺) (Meunier et al., 2004).

A actividade catalítica do CYP450 é despoletada pela activação de uma molécula de O₂ e para que o processo de monooxigenação do substrato ocorra é necessária, tal como referido, a redução do átomo de ferro do grupo prostético (Kitteringham et al., 1998). A flavoproteína NADPH-CYP450 redutase é a responsável por esta redução através da transferência de um electrão para o CYP450, utilizando como co-factor redutor o NADPH sem, no entanto, interagir directamente com o CYP450. Esta reacção de redução, precedida pela ligação do CYP450 na forma oxidada ao substrato (o passo responsável pelo aumento do potencial

redox da enzima), permite então que o complexo formado se ligue a uma molécula de O₂, captando mais um electrão. Este segundo electrão, procedente do NADPH ou, alternativamente, do NADH, co-factor do citocromo b5 redutase, permite a clivagem da molécula de O₂ com a posterior inserção de um dos átomos no substrato e a utilização do outro na produção de uma molécula de H₂O. Por fim, o substrato oxigenado dissocia-se do complexo e o CYP450 retoma a forma oxidada, pronto para iniciar um novo processo catalítico (Werck-Reichhart & Feyereisen, 2000; Oshima-Franco & Franco, 2003).

O processo de monooxigenação descrito, no qual um átomo de oxigénio é incorporado no substrato (RH) e o outro é reduzido a água, pode ser traduzido e sistematizado de acordo com a seguinte equação:



As enzimas do CYP450 podem ser agrupadas em quatro classes (I, II, III, IV) de acordo com o processo de transferência dos electrões a partir do NADPH. Deste modo: na classe I inserem-se as enzimas que necessitam simultaneamente de uma redutase contendo o co-factor de redução flavina adenina dinucleotídeo (FAD) e uma redoxina contendo ferro e enxofre; na classe II inserem-se as enzimas que apenas necessitam da NADPH-CYP450 redutase; na classe III inserem-se as enzimas que não necessitam de dadores de electrões; e na classe IV inserem-se as enzimas que interagem directamente com o co-factor NADPH no processo de transferência de electrões. As enzimas da classe II são as mais comuns nas células eucarióticas e de maior relevância no processo de biotransformação de xenobióticos (Werck-Reichhart & Feyereisen, 2000).

O CYP450 catalisa não só reacções de oxidação aeróbicas na presença de NADPH mas, também, reacções de oxidação anaeróbicas na presença de diferentes oxidantes. Do ponto de vista químico, este complexo enzimático participa, também, em reacções de oxidação com clivagem de pontes C-C ou C=N, reacções de redução, desalquilação, desaminação, desidratação, desidrogenação, isomerização e dimerização, devendo-se esta diversidade de reacções catalisadas, por um lado, à capacidade do grupo heme existir em diferentes estados de oxidação com diferentes reactividades e por outro, à acessibilidade do CYP450 a uma grande variedade de substratos (Park et al., 1995; Werck-Reichhart & Feyereisen, 2000).

1.1.1.2. Nomenclatura da superfamília CYP450

Um sistema de nomenclatura foi desenvolvido para o CYP450 sendo que, a terminologia usada para denominar as várias isoformas que o compõem deriva da similaridade das

respectivas sequências de aminoácidos tendo em conta, ainda, critérios de organização genética e filogenética. Esta nomenclatura consta do prefixo CYP, usado para designar o citocromo P450, ao qual se seguem um número árabe para designar a família, uma letra para designar a subfamília e por último, novamente um número árabe que designa a isoenzima específica. A sigla completa, quando em *itálico*, refere-se ao gene que codifica a enzima em questão. As enzimas de cada família partilham entre si uma homologia genética de, pelo menos, 40% e dentro de cada subfamília essa homologia é de, pelo menos, 55% (Glue & Clement, 1999; Meunier et al., 2004).

Por convenção, todos os números que caracterizam a família e que sejam inferiores a 100 são reservados para as enzimas provenientes de organismos eucarióticos enquanto os números superiores a 100 correspondem a enzimas provenientes de microorganismos procarióticos (Parkinson, 2001).

Das famílias identificadas até à data, uma lista cada vez mais extensa e que conta com mais de 200 elementos, 12 encontram-se presentes em todos os mamíferos e, embora seja significativa a diversidade genética encontrada, apenas um pequeno número de enzimas apresenta actividade clinicamente relevante (Glue & Clement, 1999; Meunier et al., 2004).

Algumas subfamílias são constituídas por enzimas presentes em diferentes espécies de mamíferos. Estas enzimas, cujas funções e regulação são conservadas entre espécies, recebem o mesmo nome em todas as espécies nas quais ocorrem. Nos casos em que as relações funcionais e evolutivas não são tão aparentes, as isoenzimas são nomeadas de forma específica de acordo com a espécie e numa ordem cronológica (Parkinson, 2001).

A sua distribuição no organismo, bem como, a sua actividade catalítica e respectiva regulação, varia entre espécies, famílias, membros de diferentes subfamílias e até mesmo de uma mesma subfamília, sendo de salientar as diferenças entre espécies no que respeita às principais famílias envolvidas na metabolização dos xenobióticos. Nos mamíferos, um mesmo microsoma hepático pode conter diferentes isoenzimas, de diferentes famílias e subfamílias, que metabolizam xenobióticos e/ou compostos endógenos (Parkinson, 2001).

1.1.1.3. Principais diferenças entre espécies

Como referido, as isoenzimas do sistema CYP450 estão presentes em quase todos os organismos, tendo expressão em todos os reinos biológicos. A sua actividade varia de espécie para espécie e é altamente influenciada por factores endógenos e exógenos ao organismo (Glue & Clement, 1999; Santiago, 2003).

É possível identificar isoenzimas deste sistema em organismos como protistas, fungos e

bactérias. As bactérias agrupam em si isoenzimas da família CYP101 até à família CYP184, o que representa uma grande proporção dos elementos identificados até à data. As isoenzimas melhor estudadas foram isoladas das bactérias *Pseudomonas putida* e *Bacillus megaterium*, pertencendo às famílias CYP101 (ou P450_{cam}, responsável pela hidroxilação da cânfora (C₁₀H₁₆O)) e CYP102 (ou P450_{BM-3}, responsável pela hidroxilação de ácidos gordos ω -2, como os ácidos pentadecanóico e palmítico), respectivamente. A estrutura das isoenzimas de diversas famílias foi já caracterizada através da cristalografia de raio X, o que permitiu identificar as principais diferenças no que respeita à especificidade de substratos e, também, algumas similaridades que justificam a manutenção da estrutura terciária ao longo de todas as famílias de praticamente todas as espécies. Destas similaridades destaca-se o decapeptídeo presente no início da hélice L responsável pela ligação do grupo heme à proteína que, para além do imutável resíduo de cisteína presente na região C terminal, apresenta uma formulação com características comuns a todas as famílias: FxxGxxxCxG, onde x representa o resíduo de qualquer aminoácido, F a fenilalanina, G a glicina e C a cisteína; nas bactérias, é também transversal a todas as famílias a presença de uma redoxina (proteína ferro-enxofre com sua redutase associada) como mediador dos agentes redutores NADH ou NADPH (Lewis & Wiseman, 2005).

No Homem, tal como na maioria dos mamíferos, as isoenzimas apresentam uma distribuição ubiquitária embora as enzimas de maior relevância na oxidação dos fármacos se localizem no fígado, com particular interesse clínico as enzimas: CYP1A2, CYP2A6, CYP2C (9, 10, 18, 19), CYP2D6, CYP2E1 e CYP3A4; a isoenzima CYP3A4 é a mais abundante no fígado e a mais frequentemente envolvida em interações farmacocinéticas (Glue & Clement, 1999; Santiago, 2003), representando, aproximadamente, 70% das isoenzimas de origem GI. A sua localização estende-se a outros órgãos e tecidos como a placenta, tecidos fetais, útero, rins e pulmões (Hasler et al., 1999; Shapiro & Shear, 2001).

No cão e no gato existem ainda poucos estudos acerca das diferentes famílias e subfamílias do CYP450. Contudo, foram já sequenciados oito genes caninos codificadores das isoenzimas CYP1A1, CYP1A2, CYP2B11, CYP2C21, CYP2C41, CYP2D15, CYP3A12 e CYP3A26 (Graham et al., 2002), sendo a isoenzima CYP2C21 a que se encontra melhor caracterizada (Trepanier, 2006). No gato, até à data, apenas foi identificada a presença de isoenzimas das subfamílias CYP1A e CYP2E, presentes também no cão, não tendo sido identificadas isoformas das subfamílias CYP2C, CYP2D ou CYP3A (Trepanier, 2006; Fink-Gremmels, 2008).

1.1.1.3.1. Subfamília CYP1A

A família CYP1 é constituída por duas subfamílias: CYP1A e CYP1B, das quais a melhor caracterizada e estudada é a CYP1A. A subfamília CYP1A é nitidamente bem conservada entre as espécies onde se encontra representada, embora existam algumas diferenças em relação à inducibilidade e ao perfil de especificidade para substratos. Esta subfamília possui duas enzimas em todas as espécies de mamíferos, conhecidas como CYP1A1 e CYP1A2, que apresentam grande similaridade relativamente à sua estrutura primária e características físico-químicas. A isoenzima CYP1A1 de rato e humana, quando comparadas, apresentam uma sequência de aminoácidos 79% idêntica, sendo esta similaridade de 75% para a isoenzima CYP1A2 de ambas as espécies (Guengerich, 1997; Martignoni, Groothuis & Kanter, 2006).

Esta família assume um papel de considerável importância no metabolismo dos xenobióticos e está envolvida, de um modo geral, no metabolismo oxidativo de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, aminas heterocíclicas e aminas aromáticas (Martignoni et al., 2006).

A distribuição tecidual dos níveis de expressão enzimática e de ácido ribonucleico mensageiro (ARNm) varia entre CYP1A1 e CYP1A2: a primeira é expressa no fígado mas também em outros órgãos, como rins, pulmões, intestino e placenta, sendo de localização maioritariamente extra-hepática no Homem e a segunda aparenta ter uma expressão limitada ao fígado. No macaco e no cão não há evidências de expressão destas enzimas a nível intestinal (Martignoni et al., 2006).

Algumas espécies de macacos apresentam uma reduzida ou até mesmo inexistente expressão da isoenzima CYP1A2, o que interfere com a utilização destes animais para a realização de determinados bioensaios como, por exemplo, a determinação do potencial carcinogénico das aminas heterocíclicas (Guengerich, 1997).

1.1.1.3.2. Subfamília CYP2A

A família CYP2 é, sem dúvida, a maior de todas as famílias do CYP450 sendo constituída por cinco subfamílias: CYP2A, CYP2B, CYP2C, CYP2D e CYP2E (Guengerich, 1997).

No Homem, a subfamília CYP2A inclui as isoenzimas CYP2A6, CYP2A7 e CYP2A13, sendo a CYP2A6 a de maior expressão a nível hepático. No cão, esta subfamília encontra-se representada pelas isoenzimas CYP2A13 e CYP2A25, presentes no fígado. Já no rato, as isoenzimas CYP2A1, CYP2A2 e CYP2A3 são os principais elementos, enquanto no hamster são as isoenzimas CYP2A4, CYP2A5, CYP2A12 e CYP2A22 (Martignoni et al., 2006).

As isoenzimas pertencentes à subfamília CYP2A exibem uma acentuada diferença entre

espécies quanto à função catalítica. A título de exemplo, as enzimas CYP2A1 e CYP2A2 expressas no fígado de rato catalisam primariamente a 7 α - e 15 α - hidroxilação da testosterona, respectivamente, enquanto a enzima CYP2A6 humana tem reduzida ou nenhuma capacidade de hidroxilar a testosterona, estando particularmente envolvida no metabolismo de xenobióticos como: a 7-hidroxilação da cumarina e a oxidação da nicotina, ciclofosfamida, ifosfamida, fadrozole e aflatoxina B1 (Chauret, Gauthier, Martin & Griffith, 1997; Guengerich, 1997; Martignoni et al., 2006).

As várias isoenzimas apresentam também diferenças importantes quanto à inducibilidade: enquanto a CYP2A4 de rato é relativamente refractária à indução, a CYP2A5 de hamster e a CYP2A6 humana são passíveis de indução por diversas substâncias estruturalmente distintas, como o fenobarbital, a rifampicina, a dexametasona e a nicotina (Martignoni et al., 2006).

1.1.1.3.3. Subfamília CYP2B

Com base em análises genéticas pode dizer-se que a subfamília CYP2B é, em termos de número de isoenzimas, uma das maiores subfamílias do CYP450, tendo expressão hepática em todas as espécies (Martignoni et al., 2006).

Esta subfamília tem sido intensamente investigada em ratos nos quais foram já descritas as isoenzimas CYP2B1, CYP2B2 e CYP2B3 e, embora as duas primeiras apresentem 97% de similaridade entre si, as formas de expressão e regulação são diferentes. Ambas têm expressão hepática e extrahepática mas a isoenzima CYP2B1 apresenta maior actividade catalítica (Martignoni et al., 2006).

No Homem, esta subfamília inclui as isoenzimas CYP2B6, de expressão hepática e extrahepática e CYP2B7, cuja actividade foi detectada apenas no tecido pulmonar. A enzima CYP2B6, com 76% de similaridade com a enzima CYP2B1 de rato, apresenta actividade no metabolismo de cerca de 25% dos fármacos presentes no mercado, dos quais se destacam a ciclofosfamida, a quetamina e o propofol e é alvo de acentuada variabilidade interindividual no que respeita à sua expressão hepática, sendo maior nos indivíduos do sexo feminino (Guengerich, 1997; Martignoni et al., 2006).

A principal isoenzima canina é a CYP2B11, isoenzima esta específica desta espécie e com 75% de similaridade com a enzima CYP2B1 de rato, sendo a única entre as diversas isoenzimas de origem mamífera capaz de metabolizar hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (Guengerich, 1997; Martignoni et al., 2006; Fink-Gremmels, 2008). É também responsável pela 16 α - e 16 β -hidroxilação da testosterona, à semelhança da CYP2B1 de rato, embora seja mais activa na 16 α -hidroxilação (Graham et al., 2002).

As isoenzimas descritas são fortemente induzidas pelo fenobarbital e apresentam dimorfismo sexual, à excepção das isoenzimas caninas. As diferenças relacionadas com o género na expressão das enzimas do CYP450 devem-se, em grande parte, a diferenças sexuais no padrão de secreção da hormona do crescimento, que é pulsátil nos machos e relativamente contínua nas fêmeas (Martignoni et al., 2006).

1.1.1.3.4. Subfamília CYP2C

No Homem, esta subfamília compreende quatro isoenzimas funcionais (2C8, 2C9, 2C18 e 2C19) que partilham entre si uma homologia aminoacídica de 80% (Guengerich, 1997). As isoenzimas CYP2C8 e CYP2C9 são as de maior expressão hepática, com a CYP2C18 presente somente na epiderme. A CYP2C8 é expressa noutros órgãos como rins, glândulas adrenais, útero, ovários, glândulas mamárias, duodeno e encéfalo e encontra-se envolvida no metabolismo do retinol, ácido retinóico, ácido araquidónico, benzopireno, entre outros. A CYP2C9 é expressa igualmente noutros órgãos actuando na metabolização da tolbutamida, fenitoína, varfarina, ibuprofeno, diclofenaco, piroxicam, tenoxicam, ácido mefenâmico, losartan, entre outros. Já a CYP2C19 encontra-se presente no fígado e duodeno desempenhando a sua actividade catalítica no metabolismo de substâncias activas como a S-mefenitoína, imipramina, diazepam, alguns barbitúricos, omeprazol, entre outros (Martignoni et al., 2006).

A subfamília CYP2C é a mais abundante no fígado de rato estando representada pelas isoenzimas CYP2C6, CYP2C7, CYP2C11, CYP2C12, CYP2C13, CYP2C22 e CYP2C23 envolvidas na oxidação de dihidropiridinas e da aflatoxina B1, bem como, na hidroxilação de esteróides. Nesta espécie, a subfamília CYP2C apresenta acentuado dimorfismo sexual, com a isoenzima CYP2C7 a predominar nas fêmeas e a isoenzima CYP2C11 a predominar no tecido hepático dos machos, com um papel preponderante na 2 α - e 16 α - hidroxilação de androgénios. Também nesta espécie está comprovada a supressão destas isoenzimas, quer hepáticas quer extrahepáticas, por alguns fármacos anticancerígenos como a cisplatina, a ciclofosfamida e a isosfamida, particularmente, devido a alteração hormonais que estes citotóxicos provocam, nomeadamente, nos níveis de testosterona e estradiol (Martignoni et al., 2006).

No cão identificam-se duas isoenzimas, CYP2C21 e CYP2C41, ambas de expressão hepática, mas cujos níveis são altamente variáveis sendo notável o polimorfismo da isoenzima CYP2C41, presente em apenas 14% de todas as linhagens existentes. É de salientar as diferenças de substrato entre as isoenzimas caninas e as humanas, um importante aspecto aquando da inclusão desta espécie na realização de estudos de eficácia farmacológica e

toxicológicos (Martignoni et al., 2006; Fink-Gremmels, 2008).

1.1.1.3.5. Subfamília CYP2D

Diversos genes desta subfamília foram já detectados em várias espécies de mamíferos: Homem, rato, hamster, coelho, cão, porco, entre outras, sendo notórias as diferenças entre espécies, bem como a existência de formas ortólogas, à semelhança de outras subfamílias do CYP450.

A isoenzima humana CYP2D6, a única isoenzima desta subfamília, é das mais estudadas em matéria de farmacogenética, dado o respectivo gene ser fonte do maior número de polimorfismos identificados até à data. A CYP2D6 é expressa nos pulmões, fígado, rins, intestino (duodeno e jejuno), placenta e encéfalo, sendo responsável pela monooxigenação de fármacos antidepressivos (amitriptilina, desipramina), beta-bloqueadores (propranolol), outros antiarrítmicos, entre outros (Chauret et al., 1997; Martignoni et al., 2006).

No rato, foram identificadas até à data seis isoenzimas (CYP2D1, CYP2D2, CYP2D3, CYP2D4, CYP2D5 e CYP2D18) com uma sequência aminoácídica 70% similar à da isoenzima humana, considerando-se a CYP2D1 como a forma ortóloga da humana (Martignoni et al., 2006).

Já no cão a isoenzima prevalente é a CYP2D15 cuja actividade enzimática se assemelha muito à CYP2D6 humana (Martignoni et al., 2006).

Por oposição à maioria das subfamílias, as isoenzimas CYP2D não são passíveis de indução, mas somente de inibição, por um elevado número de fármacos que é normalmente substrato enzimático. Nesta matéria, a CYP2D15 canina é a que maior semelhança apresenta com a CYP2D6 humana dado ambas apresentarem o mesmo padrão de inibição pela quinidina, um dos mais potentes inibidores destas isoenzimas (Chauret et al., 1997; Martignoni et al., 2006).

1.1.1.3.6. Subfamília 2E

Desta subfamília destaca-se a isoenzima CYP2E1, a única na maioria dos mamíferos com excepção dos coelhos, cuja função e regulação são altamente conservadas entre espécies, pelo que esta recebe a mesma designação em todas elas (Martignoni et al., 2006).

Os níveis de CYP2E1 nos diversos órgãos de expressão não são constantes entre os indivíduos mas também não exibem a acentuada variabilidade interindividual característica de outras enzimas do CYP450. No rato, os níveis de expressão da CYP2E1 são maiores nas fêmeas do que nos machos (Parkinson, 2001).

No Homem, a referida isoenzima localiza-se em diversos tecidos como a orofaringe, fígado, pulmão, tendo um papel primordial não só no metabolismo de diversos fármacos mas também no metabolismo de ácidos gordos, particularmente no processo de gluconeogénese, em condições de anorexia e ingestão de dietas pobres em hidratos de carbono (Martignoni et al., 2006).

A isoenzima CYP2E1 é responsável pela monooxigenação de um grande número de alcanos halogenados metabolizando, também, o paracetamol, a cafeína, o benzeno, o clorofórmio, a teofilina, as nitrosaminas, entre outros. Embora o número de substâncias activas metabolizado pela CYP2E1 seja reduzido, o número de agentes carcinogénicos alvo de activação por esta enzima é, por outro lado, bastante extenso, incluindo: o benzeno, o estireno, o acrilonitrilo (ou nitrilo de acrílico), as nitrosaminas, entre outros (Martignoni et al., 2006).

Esta isoenzima é altamente induzível pelo etanol, característica igualmente partilhada por todas as espécies (Martignoni et al., 2006).

1.1.1.3.7. Subfamília CYP3A

Esta subfamília é responsável pelo metabolismo de uma numerosa variedade de xenobióticos, bem como, de compostos endógenos, tais como, hormonas, ácidos biliares, entre outros (Martignoni et al., 2006).

No Homem, esta subfamília, composta por quatro isoenzimas (CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7 e CYP3A43), é das mais importantes no metabolismo de fármacos, pela sua localização hepática e GI e por abranger entre os seus substratos, aproximadamente, 50% dos fármacos comercializados actualmente, entre os quais: terfenadina, midazolam, triazolam, dapsona, eritromicina, dextrometorfano, entre outros. A isoenzima CYP3A4 é a mais abundante a nível hepático embora nalguns indivíduos a expressão da CYP3A5 possa representar mais de 50% da totalidade das enzimas CYP3A hepáticas (Guengerich, 1997; Mealey, Jabbes, Spencer & Akey, 2008). É passível de indução por diversos fármacos (fenobarbital, glucocorticóides - dexametasona, rifampicina) e igualmente inibida por diversos outros (cetoconazol, itraconazol, claritromicina, eritromicina, verapamil, diltiazem) (Martignoni et al., 2006).

No rato as principais isoenzimas desta família são: CYP3A1, CYP3A2, CYP3A9, CYP3A18, CYP3A23 e CYP3A62, esta última identificada recentemente. As isoenzimas CYP3A2 e CYP3A18 são específicas do sexo masculino enquanto a CYP3A9 é a isoenzima dominante nas fêmeas. Ao contrário da CYP3A humana, a isoenzima CYP3A1 de rato não é induzida pela rifampicina (Martignoni et al., 2006).

No cão, as principais isoenzimas são a CYP3A12 e CYP3A26, ambas expressas no fígado e

no duodeno mas em diferentes proporções: a CYP3A26 apresenta maior expressão no fígado enquanto a CYP3A12, por oposição, apresenta maior expressão a nível dos enterócitos do que a CYP3A26 (Mealey et al., 2008). À semelhança das isoenzimas humanas, as isoenzimas caninas são passíveis de indução pela rifampicina mas não pela dexametasona (Martignoni et al., 2006) e são fortemente inibidas pelo cetoconazol, com destaque para a inibição da actividade catalítica da CYP3A12, particularmente, no que respeita à hidroxilação do midazolam, entre outras reacções catalíticas levadas a cabo por esta isoenzima (Kuroha, Kuze, Shimoda & Kokue, 2002).

1.1.1.4. Principais factores de regulação e variabilidade do sistema CYP450

A resposta de cada indivíduo a um fármaco ou terapêutica específicos é influenciada por diversos factores que podem ser divididos em três categorias principais: ambientais, fisiológicos e genéticos (Bodor, 2005).

Os factores ambientais fonte de variabilidade são diversos, difíceis de prever e incluem a dieta e a exposição a determinados agentes químicos, como o fumo do tabaco, entre outros. Os factores fisiológicos são igualmente numerosos e diversificados e incluem a idade, género e o estado de saúde, em termos gerais. A influência de genes específicos na variabilidade da resposta e tolerabilidade aos fármacos é uma área de excelência da Medicina Humana e cada vez mais importante em Medicina Veterinária, sendo de extrema importância o reconhecimento das diferenças entre espécies e raças no âmbito da farmacocinética (Bodor, 2005; Allevato, 2009).

1.1.1.4.1. Polimorfismo genético

Cada isoenzima do sistema CYP450 é alvo de controlo genético e, quer no Homem, quer no cão, verifica-se polimorfismo genético na expressão das diferentes isoenzimas, o que pressupõe a existência de factores genéticos moduladores deste polimorfismo. “O polimorfismo é usualmente designado como uma diferença geneticamente determinada afectando $\geq 2\%$ da população em investigação” (Martignoni et al., 2006).

As principais formas de polimorfismo constam de polimorfismo de base única (SNP - *single nucleotide polymorphism*), variação no número de cópias de segmentos de ácido desoxirribonucleico (ADN) (CNV - *copy number variation*), inserção/deleção (InDel - *insert/deletion* e número variável de repetições em tandem (VNTR - *variable number of tandem repeats*). Os SNP's são a forma mais comum de polimorfismo nos quais ocorre

mutação de um único par de bases nucleotídicas da molécula de ADN com alteração de um único aminoácido na enzima, sendo o suficiente para promover uma alteração da expressão enzimática (actividade catalítica e estabilidade) e/ou especificidade dos substratos enzimáticos. Uma mutação, para gerar polimorfismo, tem de ser relativamente frequente (no mínimo >1%) (Lefebvre, Tosser-Klopp, Toutain & Hatey, 2003; Allevato, 2009), sendo a frequência e a consistência de ocorrência, as principais características que distinguem um SNP de uma mutação espontânea (Trepanier, 2003). Das mutações que ocorrem resultam diferentes fenótipos na população, ou seja, diferentes indivíduos apresentam diferentes níveis de actividade de diferentes isoenzimas, podendo existir indivíduos metabolizadores fracos (*poor metabolizer* - PM) quando há falta de isoenzima (em qualidade ou quantidade), possuidores de características autossómicas recessivas, indivíduos metabolizadores extensos (*extensive metabolizer* - EM), possuidores de características autossómicas dominantes e cuja actividade enzimática é normal ou aumentada e indivíduos ultra-metabolizadores (*ultra-rapid metabolizer* - URM), que apresentam várias cópias do gene codificador de determinada isoenzima (Audi & Pussi, 2000; Cribb, 2003).

Na população humana, cerca de 10% dos indivíduos caucasianos são PM para a isoenzima CYP2D6, percentagem esta menor entre indivíduos negros e asiáticos e cerca de 3% a 5% dos caucasianos e 18% a 20% dos indivíduos negros e asiáticos são PM para a isoenzima CYP2C19, o que torna estes indivíduos alvo de maior risco de reacções adversas e intoxicações aquando do uso de fármacos metabolizados por estas isoenzimas (Glue & Clement, 1999; Audi & Pussi, 2000). Como exemplo deste polimorfismo genético na espécie canina, destaca-se a fraca metabolização do propofol pela isoenzima CYP2B11 nos Galgos (com aumento da sua concentração plasmática e aumento do tempo de recuperação anestésica), que não se observa em cães de raça indeterminada (Trepanier, 2003), bem como, a existência de duas populações distintas de cães (PM e EM) no que respeita ao metabolismo do anti-inflamatório não esteróide (AINE) celecoxib pela isoenzima CYP2D15 (Lefebvre et al., 2003; Trepanier, 2003).

Em geral, os estudos acerca da componente genética do CYP450 e do seu impacto não são suficientemente esclarecedores e apenas se pode afirmar que, estes factores genéticos associados a factores ambientais, são responsáveis por uma variabilidade individual no metabolismo dos fármacos, que no caso dos cães pode ser de grande relevância dado esta ser uma espécie alvo de estudos farmacológicos e toxicológicos de fármacos destinados ao uso humano e ser uma espécie alvo em Medicina Veterinária, podendo estar na origem de interpretações inadequadas no que respeita à eficácia terapêutica e toxicidade (Mise et al., 2003).

1.1.1.4.2. Indução e inibição do CYP450

Tal como referido, o CYP450 pode ser alvo de inibição ou indução por diversos fármacos, originando alteração no metabolismo de diversos outros (Kitteringham et al., 1998).

O mecanismo de inibição enzimática pode ser reversível ou irreversível. Ocorre reversibilidade quando o fármaco inibidor apresenta especificidade para um determinado local catalítico da isoenzima em questão, podendo competir pelo mesmo local do fármaco substrato (inibição competitiva) ou ligar-se a outro local da enzima, com alteração da sua conformação e, logo, de todos os seus pontos catalíticos (inibição não competitiva). A irreversibilidade verifica-se quando o fármaco inibidor estabelece uma ligação covalente com o grupo heme das isoenzimas do citocromo, sendo necessária nova síntese enzimática para que o metabolismo de determinado fármaco seja restabelecido (Santiago, 2003; Trepanier, 2006; Chicoine, 2008). O mecanismo de indução ocorre por ligação à região promotora do gene de determinada isoenzima originando transcrição do ADN codificado e aumento da respectiva concentração enzimática. Ocorre, assim, um aumento da metabolização dos fármacos substrato dessa isoenzima não sendo atingidas as concentrações terapêuticas desejadas. No entanto, por envolver transcrição de ADN e síntese proteica, o processo de indução do CYP450 é lento, sendo necessários vários dias a semanas para que os seus efeitos adversos se façam sentir (Trepanier, 2006; Chicoine, 2008; Martín-Jiménez, 2010). Já o processo de inibição é quase imediato ocorrendo no espaço de vinte e quatro a quarenta e oito horas (Levêque, 2010).

Dos factores subjacentes ao processo de indução, importa salientar a existência de diferentes receptores nucleares nas células onde o citocromo tem expressão que, quando activados por compostos endógenos e exógenos específicos, induzem a transcrição do ADN codificador das diversas isoenzimas de uma subfamília em particular. Este processo embora seja similar entre o Homem e o cão, não se encontra totalmente caracterizado neste último dado o escasso conhecimento acerca da composição molecular específica dos receptores nucleares caninos. No Homem, destacam-se os seguintes receptores: receptor aril-hidrocarboneto (*aryl-hydrocarbon receptor* (AhR)), envolvido na indução dos genes da família *CYP1*, receptor X pregnano (*pregnane X-receptor* (PXR)) e receptor constitutivo androstano (*constitutive androstane receptor* (CAR)), envolvidos na indução dos genes das subfamílias *CYP2B*, *CYP2C* e *CYP3A* (Xu et al., 2005; Levêque, 2010).

Na tabela 1 são apresentados os principais substratos do CYP450 canino, bem como, os principais fármacos inibidores e indutores das diferentes isoenzimas.

Tabela 1: Principais isoenzimas do CYP450 canino (adaptado de Trepanier, 2006)

	Principais substratos	Principais fármacos indutores	Principais fármacos inibidores
CYP1A2	Fluoroquinolonas Teofilina	Omeprazol	Cimetidina Ciprofloxacina
CYP2B11	Propofol Diazepam Progesterona Testosterona Ciclofosfamida Diclofenaco	Fenobarbital	Cloranfenicol
CYP2C21	Testosterona Diclofenaco	Fenobarbital	
CYP2C41	Por determinar		
CYP2D15	Celecoxib Dextrometorfano Imipramina Metoprolol Propranolol		Quinidina
CYP2E	Clorzoxazona		
CYP3A12/ CYP3A26	Eritromicina Tracolimus Ciclosporina Diazepam Midazolam Nordiazepam Progesterona Testosterona	Fenobarbital Rifampicina	Cetoconazol Itraconazol Bergamotina

É de salientar que muitos fármacos promovem simultaneamente inibição e indução enzimática de diferentes isoenzimas e que, nalguns casos, o fármaco substrato é, também, inibidor ou indutor da isoenzima responsável pelo seu metabolismo; é o caso da ciclosporina A, que é simultaneamente substrato e inibidor da isoenzima humana CYP3A4 (Hisaka, Ohno, Yamamoto & Suzuki, 2010).

Das interações descritas em Medicina Veterinária, as que se encontram confirmadas por estudos *in vivo* são: enrofloxacin/teofilina; cloranfenicol/fenobarbital; cloranfenicol/propofol; cetoconazol/ciclosporina; cetoconazol/midazolam; cetoconazol/nifedipina; cimetidina/verapamil (Cribb, 2003).

Os fármacos envolvidos no processo de alteração da actividade do CYP450 podem ser classificados de acordo com o seu poder de inibição e/ou indução da metabolização de outros. Assim, e com base em modelos utilizados em Medicina Humana, considera-se um fármaco como inibidor forte, moderado ou fraco quando promove um factor de aumento do valor da

área sob a curva (AUC) dos fármacos substracto ≥ 5 , ≥ 2 mas < 5 e $\geq 1,25$ mas < 2 , respectivamente. Um fármaco indutor forte, moderado ou fraco é aquele que promove uma diminuição do valor da AUC $\geq 80\%$, $\geq 50\%$ mas $< 80\%$ e $\geq 20\%$ mas $< 50\%$, respectivamente (Levêque, 2010).

1.1.1.4.3. Expressão do CYP450 na doença hepática

A doença, particularmente quando afecta o fígado, pode reduzir a actividade do sistema CYP450 reduzindo a biotransformação de diversos fármacos. Este processo depende da natureza da doença sendo afectadas diferentes isoenzimas conforme o tipo de lesão em curso. Os fármacos alvo de maior impacto são principalmente os de índice terapêutico estreito (Park et al., 1995).

Num estudo em Medicina Humana realizado por Petushkova et al. (2006), verificou-se diminuição dos níveis de actividade da enzima NADPH-CYP450 redutase mas aumento do conteúdo microsomal de citocromo b5 e de isoenzimas do CYP450, na presença de doença hepática (neste caso, representada por metástases provenientes de cancro do cólon). Contudo, apesar do aumento total do CYP450, observou-se diminuição da actividade enzimática das isoenzimas CYP1A1/1A2 e CYP3A4. Diversos outros estudos comprovam a diminuição das referidas isoenzimas de origem humana, entre outras, como a CYP2C9 e a CYP2E1, em casos de neoplasia primária ou metastática hepática. Já nas lesões cirróticas associadas ao consumo de álcool verifica-se diminuição de algumas isoenzimas e aumento de outras, particularmente a CYP2E1, o que confirma a importância da natureza da lesão no impacto sobre a actividade do CYP450. A presença ou não de colestase é também um factor determinante no padrão de alteração da expressão enzimática (Park et al., 1995; Hasler et al., 1999).

Para além da componente lesional do parênquima hepática há ainda a destacar o efeito dos diversos mediadores pró-inflamatórios (como as interleucinas e o factor de necrose tumoral-alfa – TNF- α), produzidos em quadros infecciosos e não infecciosos, na expressão do CYP450, promovendo diminuição da expressão e actividade das mais diversas isoenzimas (Park et al., 1995).

1.1.2. Fase II da biotransformação hepática: glucuronidação

Para além da actividade enzimática do sistema CYP450, uma nova área de interesse para a compreensão das interacções farmacocinéticas tem vindo a desenvolver-se em Medicina Humana: a expressão e actividade das enzimas envolvidas na fase II da metabolização

hepática, com destaque para as UGT's. Estas enzimas são responsáveis pela glucuronidação de, pelo menos, 35% dos fármacos sujeitos à fase II da metabolização hepática e apresentam, à semelhança do CYP450, polimorfismo genético. São igualmente susceptíveis à inibição e/ou indução por diversos fármacos com a consequente alteração da farmacocinética dos seus fármacos substracto, pelo que este grupo de enzimas é, também, uma potencial fonte de interações farmacocinéticas (Zhang et al, 2010).

A glucuronidação é uma das principais vias de biotransformação de xenobióticos em todos os mamíferos, com excepção dos felídeos. Esta reacção requer como co-substracto o UDP-ácido glucurónico e é catalisada pelas UGT's (Zhang et al., 2010).

A natureza dos grupos funcionais presentes nas moléculas é o principal determinante do destino metabólico do composto e no caso da glucuronidação, os compostos mais susceptíveis a esta reacção são os que contêm os grupos -OH, -COOH, -NH₂, -NH e -SH. Para além dos diversos xenobióticos e metabolitos oriundos da fase I da metabolização hepática são, também, substractos para a glucuronidação vários compostos endógenos potencialmente tóxicos como a bilirrubina, o estradiol 17 β , a progesterona, a testosterona, o cortisol e a tiroxina (Zhang et al., 2010).

1.1.2.1. UGT's

As UGT's constituem uma superfamília de várias isoenzimas associadas à membrana do retículo endoplasmático das células hepáticas e de outros tecidos, como rins, intestino delgado, cólon, pele, cérebro, baço e mucosa nasal. A sua localização microssomal confere-lhes acesso directo aos produtos formados pela acção das enzimas do sistema CYP450, na fase I da biotransformação hepática (Kiang, Ensom & Chang, 2005).

No Homem foram já identificadas diversas UGT's, divididas em duas famílias (UGT1 e UGT2) e três subfamílias (UGT1A, UGT2A e UGT2B). Todos os membros da subfamília UGT1A são codificados por genes localizados num único *locus*, característica esta comum a diversas outras espécies como o rato, o macaco e o cão (Bock, 2003). Dos genes presentes apenas nove codificam para proteínas funcionais que são elas: UGT1A1, UGT1A3, UGT1A4, UGT1A5, UGT1A6, UGT1A7, UGT1A8, UGT1A9 e UGT1A10. A família UGT2 é representada por genes localizados em diversos *loci* que codificam para as proteínas UGT2A1, UGT2B4, UGT2B7, UGT2B10, UGT2B11, UGT2B15, UGT2B17 e UGT2B28 (Kiang et al., 2005).

O UDP-ácido glucurónico, co-substracto para a glucuronidação, é sintetizado a partir da glicose-1-fosfato presente em todos os tecidos do organismo. Este co-substracto é

hidrossolúvel e sintetizado no citoplasma pelo que o seu acesso às UGT's, localizadas no lúmen do retículo endoplasmático, pode constituir um problema, acreditando-se que este acesso é mediado por transportadores que introduzem o co-substrato no lúmen do retículo, bem como, transferem a UDP de volta para o citoplasma para nova síntese de UDP-ácido glucurónico (Kiang et al., 2005).

Durante a reacção de conjugação, o ácido glucurónico do co-substrato, que apresenta uma α -configuração, sofre uma inversão e é adicionado aos grupos funcionais das mais diversas moléculas hidrofóbicas, formando glucuronatos de xenobióticos com uma β -configuração. Esta configuração dos xenobióticos conjugados permite-lhes, ao contrário do UDP-ácido glucurónico, serem substrato para a enzima β -glucuronidase que, para além de estar presente no lisossomas de alguns tecidos de mamíferos, pode ser encontrada na microflora intestinal. Em consequência da acção desta enzima, alguns substratos podem ser libertados e reabsorvidos a nível intestinal levando a recirculação entero-hepática. As múltiplas isoenzimas de UGT's apresentam especificidade distinta para os substratos endógenos mas sobreposição de especificidade para os xenobióticos. As isoenzimas da família UGT1 são responsáveis pela glucuronidação da bilirrubina, com destaque para a UGT1A1 e ambas as famílias, UGT1 e UGT2, são responsáveis pela glucuronidação de hormonas esteróides (Kiang et al., 2005).

Como referido anteriormente, a expressão deste grupo de enzimas é passível de indução e inibição, mediada por receptores e/ou factores de transcrição que podem ser activados por xenobióticos, como substâncias carcinogénicas, e hormonas, entre outros. As principais isoenzimas humanas passíveis de indução são: UGT1A1, UGT1A3, UGT1A6, UGT1A9 e UGT2B7. A título de exemplo, o receptor AhR regula a indução das enzimas UGT1A6 e UGT1A9, enquanto os receptores CAR e PXR regulam a indução da UGT1A1. Alguns fármacos indutores da expressão destas enzimas são igualmente indutores de outras enzimas envolvidas na biotransformação hepática; é o caso da rifampicina, do fenobarbital e da fenitoína que, para além de serem indutores das UGT's são, também, indutores do CYP450, como já referido (Kiang et al., 2005; Xu et al., 2005).

A presença de polimorfismo genético foi detectada entre as seguintes isoenzimas: UGT1A1, UGT1A3, UGT1A4, UGT1A6, UGT1A7, UGT1A8, UGT1A9, UGT2A1, UGT2B4, UGT2B7, UGT2B15 e UGT2B28, com destaque para a ocorrência de polimorfismo na região promotora do gene *UGT1A1* que, nos indivíduos homozigóticos para o alelo polimórfico (cerca de 7% a 19% da população caucasiana), gera a síndrome de Gilbert, caracterizada por uma hiperbilirrubinémia não conjugada, dado a isoenzima UGT1A1 ser uma das principais responsáveis pela homeostase da bilirrubina (Kiang et al., 2005).

À semelhança do sistema CYP450, existem diversas evidências experimentais de interações farmacocinéticas envolvendo fármacos substrato das UGT's: a glucuronidação do paracetamol, um analgésico muito utilizado pela população humana, é inibida pela ranitidina, pelo propranolol e pela cisaprida; a glucuronidação do antiviral 3'-azido-3'-deoxitimidina (AZT) pela UGT2B7 é inibida pelos fármacos atovaquona, fluconazol, naproxeno e ácido valpróico; a glucuronidação do anticonvulsivo carbamazepina pela UGT2B7 é inibida pelo ácido valpróico que inibe, também, a epoxihidroxilase microsomal responsável pela inactivação do metabolito oriundo da metabolização inicial da carbamazepina pela isoenzima CYP3A4 (Kiang et al., 2005; Silvado, 2008).

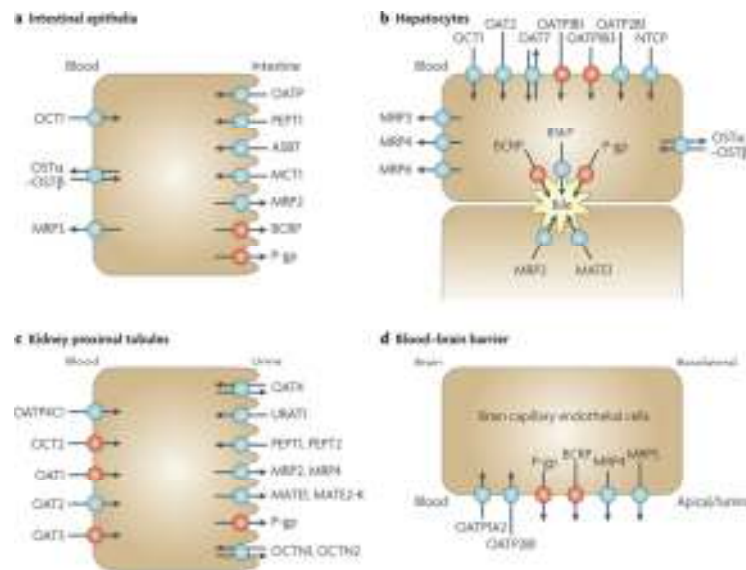
A previsibilidade *in vivo* de interações envolvendo este grupo de enzimas a partir de estudos *in vitro* continua a ser questionada devido a diversas particularidades envolvendo estas enzimas, nomeadamente: a localização intraluminal das UGT's no retículo endoplasmático com restrição da passagem dos substratos e dos produtos conjugados para e a partir do local catalítico, gerando um fenómeno de latência; a permanência *in vitro* dos produtos conjugados que podem potencialmente inibir a glucuronidação; a ausência *in vitro* do fenómeno de recirculação entero-hepática observado *in vivo*; e inexistência de substratos UGT específicos para a realização dos estudos *in vitro* (Kiang et al., 2005).

1.2. Interações farmacocinéticas: o papel dos transportadores de membrana

O metabolismo não é o único factor determinante na farmacocinética dos fármacos sendo de extrema relevância o papel dos transportadores de membrana no modo como as mais diversas moléculas percorrem o organismo e os respectivos compartimentos (Zhang, Strong, Qiu, Lesko & Huang, 2005). Os transportadores membranares são os principais responsáveis pelos processos de absorção, eliminação e penetração em órgãos específicos (sistema nervoso central (SNC), fígado), quer de fármacos quer de substâncias endógenas. A sua importância advém precisamente do papel que assumem em todas as etapas observadas na farmacocinética, por oposição ao sistema CYP450 cujo papel se remete ao metabolismo (Shapiro & Shear, 2001; Szakács, Váradi, Özvegy-Laczka & Sarkadi, 2008).

São conhecidas duas superfamílias principais de transportadores de membrana, representadas na figura 2: os transportadores *Multidrug resistance ATP binding cassette* (MDR-ABC) e os transportadores *Solute-linked carrier* (SLC) (Szakács et al., 2008; Levêque, 2010).

Figura 2: Principais transportadores de membrana de origem humana presentes na parede intestinal, no fígado, no rim e na barreira hemato-encefálica (Giacomini et al., 2010).



1.2.1. Transportadores MDR-ABC

Os transportadores MDR-ABC, pela sua localização quer nas membranas plasmáticas, quer nas membranas intracelulares, e pela sua capacidade de reconhecimento quer de substratos de natureza hidrofóbica, quer de catiões e aniões de natureza anfipática, protegem o organismo contra a acumulação de uma grande variedade de substâncias endógenas e exógenas. Têm a capacidade de se ligar a, e hidrolisar moléculas de adenosina trifosfato (ATP) pelo que o transporte de substratos está directamente ligado à sua actividade ATPase (Szakács et al., 2008).

Todas as proteínas desta família de transportadores partilham um domínio de ligação do ATP (*ATP-binding domain*) intracelular, também designado *nucleotide-binding domain* (NBD), composto por 200 a 250 aminoácidos, e apresentam uma estrutura básica que inclui o NBD e um domínio transmembranar hidrofóbico, designado TMD (Szakács et al., 2008).

O genoma humano codifica para 48 proteínas diferentes agrupadas em sete subfamílias, de A a G, responsáveis pelo transporte de iões, açúcares, aminoácidos, péptidos, proteínas, fosfolípidos, toxinas e fármacos (Szakács et al., 2008). Das proteínas com maior impacto no transporte de fármacos destacam-se as proteínas: P-gp (MDR1 ou ABCB1), MRP1 (*Multi-drug resistance associated protein 1* ou ABCC1), MRP2 (ou ABCC2), MRP4 (ou ABCC4) e BCRP (*Breast cancer resistance protein* ou ABCG2). Estas proteínas localizam-se nas membranas de diversos tecidos como o intestino, fígado, rins, barreira hemato-encefálica,

entre outras barreiras biológicas (Schrickx & Fink-Gremmels, 2008; Szakács et al., 2008).

Em Medicina Veterinária existem ainda poucos estudos sobre este tipo de transportadores destacando-se, principalmente, as proteínas ABCA1, ABCA4, P-gp e BCRP, pelos estudos realizados no âmbito da farmacocinética, particularmente em hamsters e canídeos (Spencer, Minch, Lahmers, Haldorson & Mealey, 2010).

A relevância de cada transportador na farmacocinética dos fármacos depende da sua localização nos diferentes tecidos e órgãos, e dos substratos que é capaz de reconhecer. Assim, por exemplo, as proteínas P-gp e BCRP, pela sua extensa distribuição em diferentes tecidos, assumem um papel preponderante na absorção, distribuição e eliminação de diversas substâncias endógenas e exógenas; já outras proteínas caracterizam-se por uma localização e nível de actuação mais específicos, como é o caso da MRP2, localizada, maioritariamente, aos níveis hepático e renal e cuja principal função se resume ao transporte de aniões orgânicos (como por exemplo, os antibióticos ampicilina e ceftriaxona) e conjugados hidrofílicos, provenientes da fase II da metabolização hepática, para a bília e urina (Schrickx & Fink-Gremmels, 2008).

Tal como as enzimas de biotransformação hepática, também os transportadores de membrana apresentam consideráveis diferenças entre espécies no que respeita à sua distribuição e especificidade de substratos, bem como, variabilidade interindividual pela influência de factores moduladores endógenos, como sejam a idade, as hormonas sexuais e a ocorrência de polimorfismos genéticos, e factores exógenos (a alimentação, o meio ambiente e suas características, entre outros). Em conjunto, e em associação com as referidas enzimas de biotransformação, os transportadores de membrana estão, frequentemente, na origem de interacções farmacocinéticas (Schrickx & Fink-Gremmels, 2008).

1.2.1.1. P-gp

A proteína de membrana melhor documentada quer em Medicina Humana, quer em Medicina Veterinária, é a P-gp, inicialmente, de grande relevância clínica por estar ligada à expressão de genes de multirresistência a fármacos anticancerígenos em diversas linhagens de células tumorais e, actualmente, destacada pelo facto de a sua expressão limitar o acesso de determinadas substâncias ao SNC e por interferir na absorção e eliminação de diversas outras (Marchetti, Mazzanti, Beijnen & Schellens, 2007; Levêque, 2010).

O fenómeno de multirresistência a fármacos foi, assim, designado por abranger um amplo espectro de agentes farmacológicos, com ou sem relação estrutural ou de função, tendo sido observado, em estudos iniciais, que as células que apresentavam o fenótipo de

multirresistência apresentavam, também, um aumento na expressão da P-gp (Juranka, Zastawny & Ling, 1989).

A P-gp funciona, portanto, como uma bomba de fluxo transmembranar, dependente de energia, cuja actividade diminui a acumulação intracelular de uma grande variedade de fármacos estando envolvida quer na protecção celular contra esses fármacos, quer no desenvolvimento de resistência a eles. Por outro lado, a P-gp promove a eliminação hepática, renal e intestinal desses fármacos, ao transportá-los do espaço intracelular para o lúmen dos referidos órgãos (Marchetti et al., 2007).

São conhecidas várias isoformas da P-gp, classificadas nas classes I, II e III: as classes I e II relacionadas com a multirresistência a fármacos e a classe III relacionada com o transporte de fosfolípidos. No Homem são descritas duas isoformas: MDR1, pertencente à classe I, e MDR3, pertencente à classe III, codificadas pelos genes *ABCB1* e *ABCB4*, respectivamente. Embora apresentem diferentes funções, verifica-se uma elevada identidade de sequência entre as isoformas humanas e, até mesmo, entre genes MDR humanos e de rato (Juranka et al., 1989).

No rato, por oposição ao Homem, a P-gp é representada por três elementos, dois dos quais com actividade transportadora clinicamente relevante: *mdr1a* (ou *mdr3*), pertencente à classe I e *mdr1b* (ou *mdr1*), pertencente à classe II, o primeiro com expressão no cérebro, intestino, fígado e rim e o segundo de expressão hepática e renal (Jetté, Pouliot, Murphy & Béliveau, 1995).

1.2.1.1.1. Estrutura química e mecanismo de transporte

A sua estrutura química consiste em duas metades homólogas e simétricas constituídas, cada uma, por um domínio transmembranar com seis segmentos hidrofóbicos e um domínio citoplasmático de ligação do ATP, sendo necessária a funcionalidade de ambos os domínios de ligação do ATP para a efectiva hidrólise destas moléculas. Contudo, apenas um dos domínios participa na hidrólise do ATP de cada vez, inibindo o outro de se ligar a uma nova molécula (Lin & Yamazaki, 2003).

Até à data foram já propostos diversos modelos para explicar o mecanismo de efluxo promovido pela P-gp aceitando-se, actualmente, que o substrato é interceptado pela P-gp ao atravessar a bicamada lipídica das membranas celulares e é transferido para uma parte mais interna da membrana, chamada de folheto interno, onde se encontra o local de ligação do substrato. Posteriormente, as moléculas de ATP ligam-se ao NBD provocando uma mudança conformacional da proteína, com exposição do local de ligação para o lado extracelular (Lin & Yamazaki, 2003; Huber, Mauruiama & Almeida, 2010). Por cada molécula transportada

são consumidas duas moléculas de ATP. A energia proveniente da hidrólise da primeira molécula é necessária para que ocorra a extrusão do substrato e a energia da segunda para que a P-gp assuma a sua conformação inicial e inicie um novo ciclo (Varma, Ashokraj, Dey & Panchagnula, 2003).

De entre as características determinantes para que uma substância seja reconhecida como substrato pela P-gp destacam-se a hidrofobicidade/lipofilicidade, a anfipaticidade e o número de pontes de hidrogénio presente na molécula (Lin & Yamazaki, 2003). A P-gp é responsável pelo transporte de uma grande variedade de fármacos clinicamente relevantes e pertencentes às mais variadas classes farmacoterapêuticas: anticancerígenos, agentes anti-retrovirais, antibióticos, antihelmínticos, antagonistas dos receptores H₂, antieméticos, antiarrítmicos, agentes imunossupressores, corticosteróides, analgésicos, sedativos, antiepilépticos e antidepressivos, entre outras (Balayssac, Authier, Cayre & Coudore, 2005; Marchetti et al., 2007) (vide tabela 2).

Tabela 2: Principais fármacos substrato da P-gp (adaptado de Varma et al., 2003; Balayssac et al., 2005; Dowling, 2006).

Classe farmacoterapêutica	Principais substratos	Principais inibidores
Antiarrítmicos	Amiodarona, Lidocaina, Quinidina	Amiodarona, Quinidina
Glicosídeos cardíacos	Digoxina	
Bloqueadores dos canais de cálcio	Bepridil, Diltiazem, Felodipina, Nifedipina, Nisoldipina, Nitrendipina, Tiapamil, Verapamil	Verapamil
Anestésicos locais	Bupivacaina	
Antidepressivos tricíclicos	Desipramina, Trazadona, Amitriptilina	
Antiepilépticos	Carbamazepina, Fenobarbital, Fenitoína, Lamotrigina, Felbamato	
Antibióticos e antifúngicos	Tetraciclina, Doxiciclina, Eritromicina, Rifampicina, Ceftriaxona, Levofloxacina, Itraconazol, Cetoconazol	Claritromicina, Eritromicina, Cetoconazol
Antiparasitários	Cloroquina, Hidroxicloroquina, Emetina, Quinacrina, Quinina, Ivermectina, Abamectina, Moxidectina, Selamectina	
Antiretrovirais	Indinavir, Nelfinavir, Ritonavir, Saquinavir	Ritonavir

Tabela 2 (continuação): Principais fármacos substrato da P-gp (adaptado de Varma et al., 2003; Balayssac et al., 2005; Dowling, 2006).

Classe farmacoterapêutica	Principais substratos	Principais inibidores
Inibidores da bomba de prótons	Omeprazol, Lansoprazol, Pantoprazol	Esomeprazol, Omeprazol, Lansoprazol, Pantoprazol
Antagonistas dos receptores H₁	Fexofenadina, Terfenadina	
Antagonistas dos receptores H₂	Ranitidina, Cimetidina	
Antieméticos	Ondansetrona, Domperidona	
Antidiarreicos	Loperamida	
Imunossuppressores	Ciclosporina A, Ciclosporina H, Tracolumus, Sirolimus	Ciclosporina A
Hormonas	Aldosterona, Clomifeno, Cortisol, Deoxicorticosterona, Hidrocortisona, Dexametasona, Prednisona, Metilprednisolona, Progesterona, Tamoxifeno, Testosterona	Progesterona
Quimioterápicos anticancerígenos	Vinblastina, Vincristina, Paclitaxel, Docetaxel, Daunorrubicina, Doxorrubicina, Mitoxantrona, Etoposido, Teniposido, Actinomicina D, Mitomicina C, Mitramicina, Podofilotoxina, Puromicina, Topotecano, Triamtereno	Vinblastina, Doxorrubicina, Actinomicina D

1.2.1.1.2. Distribuição tecidual: impacto na farmacocinética

Embora tenha sido inicialmente detectada em células tumorais, a P-gp é também expressa em células de tecidos normais (Marchetti et al., 2007).

No tracto GI, a primeira barreira de defesa do corpo contra a exposição oral a xenobióticos, esta proteína apresenta um gradiente de expressão crescente do estômago e duodeno em direcção ao cólon e está presente na membrana apical do epitélio, tendo um papel de grande relevância na prevenção da saturação do sistema enzimático dos enterócitos promovendo o efluxo dos fármacos para o lúmen intestinal. Através da repetição do ciclo efluxo-reabsorção, a P-gp prolonga o tempo de permanência intracelular dos fármacos favorecendo a sua exposição às enzimas de biotransformação, como seja a isoenzima CYP3A4 (Linardi & Natalini, 2006; Oostendorp, Beijnen & Schellens, 2009). Contudo, a própria actividade da P-gp pode ser alvo de saturação, embora este fenómeno seja quantitativamente pouco relevante,

excepto para os fármacos administrados em doses muito baixas e cuja absorção oral se encontra muito dependente da actividade da P-gp (Lin & Yamazaki, 2003). Nos hepatócitos localiza-se na superfície canalicular apical com um papel relevante na excreção, através da biliar, de xenobióticos que não tenham sido eliminados pelo intestino. Nos rins, a P-gp é encontrada na superfície apical das células epiteliais dos túbulos proximais, principal local de secreção renal, onde intervém no transporte de xenobióticos da circulação sanguínea para a urina. No pulmão localiza-se na superfície apical do epitélio dos brônquios e bronquíolos e também em macrófagos alveolares. Na placenta é expressa em níveis relativamente elevados, particularmente no sinciciotrofoblasto, sendo de extrema relevância na redução da exposição fetal a diversos xenobióticos embora os níveis de expressão decresçam ao longo da gestação e com o aumento da secreção de progesterona, um potente inibidor da P-gp. Nas barreiras hemato-encefálica e hemato-testicular tem um papel consideravelmente importante na protecção celular reduzindo a sua exposição a substâncias potencialmente tóxicas (Lin & Yamazaki, 2003; Balayssac et al., 2005; Linardi & Natalini, 2006).

A localização da P-gp no cérebro não se restringe às células endoteliais dos capilares da barreira hemato-encefálica existindo evidências da presença deste transportador em diversas células da glia, com destaque para os astrócitos (Lin & Yamazaki, 2003).

É também expressa em células do tecido hematopoiético, tais como, células *natural killer* (NK) (CD56⁺) e linfócitos T citotóxicos (CD8⁺) e intervém no transporte de algumas citocinas, como a interleuina-2 (IL-2), IL-4 e interferão-gama (INF- γ). A sua expressão nas diferentes células hematopoiéticas varia com a idade podendo interferir com a função linfocitária e estar implicada no decréscimo de imunidade nos indivíduos ao longo da faixa etária (Machado, Calado, Garcia & Falcão, 2003; Park, Lomri, Simeoni, Fruehauf & Mechetner, 2003).

Por análise da distribuição tecidual da P-gp conclui-se que esta proteína transportadora assume extrema importância em todas as etapas da farmacocinética: absorção, distribuição, metabolização e eliminação (Lin & Yamazaki, 2003). A título de exemplo, a actividade da P-gp destaca-se pelo facto de limitar especialmente a absorção oral de diversos fármacos, com maior ênfase a ciclosporina A, um potente inibidor da P-gp, e se encontrar implicada nos processos de eliminação digestiva e renal de diversos outros, dos quais se destaca a digoxina (Papich, 2007; Levêque, 2010).

1.2.1.1.3. Polimorfismo genético

Tal como referido, a forma como diferentes indivíduos respondem à terapêutica farmacológica varia bastante, podendo resultar de variações genéticas. Uma vez que a P-gp é um transportador de membrana envolvido na absorção e eliminação de um amplo espectro de fármacos, uma variação na sua actividade e/ou expressão pode resultar numa alteração da farmacocinética dos fármacos, reduzindo ou aumentando a sua biodisponibilidade. Além disso, a participação da P-gp na barreira de protecção do corpo contra diversas substâncias, incentiva à análise do papel da P-gp e dos polimorfismos do gene *MDR1* na susceptibilidade e desenvolvimento de diversas doenças (Lin & Yamazaki, 2003). No Homem, diversos estudos demonstraram a existência de uma relação entre a ocorrência de polimorfismo no gene *MDR1* e a predisposição para o desenvolvimento das doenças de Crohn e Parkinson (Linardi & Natalini, 2006).

Conhecem-se, actualmente, mais de 50 SNP's do gene *MDR1* humano, dos quais se destacam três, como os principais responsáveis por alterações nos níveis de expressão da P-gp, nomeadamente: T-129C, G2677A/G2677T e C3435T (Taheri, Mahjoubi & Omranipour, 2010).

Embora se possa estabelecer uma relação entre os parâmetros comumente utilizados no estudo da farmacocinética de um determinado fármaco e o genótipo do gene *MDR1* de cada indivíduo, não há evidências claras de uma relação causa-efeito entre determinado genótipo e a maior ou menor expressão da P-gp. Isto porque a grande variação individual observada na expressão da P-gp resulta de outros factores para além de diferentes genótipos como, por exemplo, o diferente grau de expressão entre tecidos e entre regiões de um mesmo tecido/órgão. A variação da expressão de *MDR1* num mesmo organismo deve, portanto, ser analisada com base noutros factores que não somente os polimorfismos deste gene (Okamura, Sakaeda & Okumura, 2004).

Esta realidade, aplicável quer à Medicina Humana, quer à Medicina Veterinária deve, contudo, ser abordada nesta última de forma cuidadosa no sentido em que o impacto de uma alteração polimórfica da P-gp varia substancialmente do Homem para as principais espécies veterinárias, como é o caso do cão e do gato. Enquanto no Homem uma determinada alteração metabólica se associa, na maioria das vezes, a mais do que uma mutação num gene específico, com distribuição por uma população de características e composição variáveis e diversificadas, no cão e no gato, associa-se, principalmente, a mutações específicas com ocorrência em raças distintas nas quais geram determinadas doenças. É o caso da hipersensibilidade à ivermectina observada, predominantemente, em cães da raça Collie, por

ocorrência de uma mutação no gene *MDR1* canino (Sharkey, Martinez, Modric, Troutman & Walker, 2008). Esta mutação ocorre por deleção no gene *MDR1* canino que dá origem a uma série de codões de terminação prematuros, cuja expressão resulta na síntese incompleta da sequência aminoacídica da P-gp com a consequente perda total ou parcial de função (Karriker, 2007).

A ivermectina, um dos compostos da classe das avermectinas mais usados em Medicina Veterinária no tratamento de infecções por parasitas internos e externos, actua por activação do ácido gama-aminobutírico (GABA) ou bloqueio dos canais de cloro controlados por glutamato existentes no sistema nervoso periférico, levando à paralisia dos parasitas. No SNC da grande maioria dos mamíferos, como é o caso do cão, é evidente a expressão do referido neurotransmissor, que pode ser alterada pela ivermectina. No entanto, a presença da P-gp na barreira hemato-encefálica impede o acesso de tais moléculas ao SNC pelo que a sua função é primordial na preservação da integridade da referida barreira (Karriker, 2007).

Os cães, nos quais ocorre esta mutação, podem apresentar homozigotia recessiva, com ambos os alelos mutantes ou, alternativamente, heterozigotia, com um alelo mutante e outro normal. Nos animais homozigóticos e, em menor extensão, nos animais heterozigóticos são evidentes as alterações na farmacocinética dos fármacos substracto da P-gp originando quadros de toxicidade evidentes que, no caso das avermectinas, se traduzem por sinais clínicos de neurotoxicidade (dose-dependente) como ataxia, convulsões, vômito, salivação e tremores. São igualmente descritos, em cães portadores desta mutação, quadros de hipersensibilidade à loperamida, à acepromazina e ao butorfanol, por penetração no SNC, entre outros fármacos, como os corticosteróides. Na sequência da alteração da excreção biliar e/ou renal observada por perda de função da P-gp é frequente, também, a diminuição da eliminação de diversos fármacos anticancerígenos como a vincristina e a doxorrubicina, e o consequente desenvolvimento de mielossupressão e toxicidade GI (Mealey, Northrup & Bentjen, 2003; Dowling, 2006; Sharkey et al., 2008). Nos cães homozigóticos é comum a ocorrência da supressão do eixo hipotalâmico-hipofisário, com desenvolvimento da doença de Addison (Dowling, 2006; Linardi & Natalini, 2006).

A mutação no gene *MDR1* descrita apresenta uma distribuição pela população canina com maior impacto em determinadas raças, com destaque para a raça Collie, como referido, tendo sido estimado que cerca de 75% dos cães desta raça, existentes nos Estados Unidos, França e Austrália, possuem um alelo mutante. Para além desta, outras raças podem ser afectadas, nomeadamente, as raças de cães pastores como o *Old English Sheepdog*, o Pastor Australiano, o Pastor de Sheltland, o Pastor Inglês, o Pastor Alemão, entre outras raças, embora a prevalência da mutação nestas raças varie bastante sendo mais frequente a detecção de

animais heterozigóticos do que homozigóticos, por oposição, aos cães da raça Collie (Karriker, 2007; Erkens et al., 2009).

Um dos métodos mais eficazes na prevenção da ocorrência dos referidos quadros de hipersensibilidade e toxicidade passa pela genotipagem dos cães pertencentes às raças com maior predisposição para a presença do(s) alelo(s) mutante(s). Nos cães homozigóticos, todos os fármacos identificados como potenciais substratos da P-gp devem ser excluídos de qualquer terapêutica instituída, enquanto nos cães heterozigóticos, a sua administração pode ser efectuada, embora sob monitorização médica apertada, com ajuste das doses ou interrupção da terapêutica, se necessário (Mealey et al., 2003; Erkens et al., 2009).

1.2.1.1.4. Inibição e indução da P-gp

À semelhança do observado para as principais enzimas de biotransformação hepática, alguns dos substratos da P-gp são capazes de inibir ou induzir o transporte de outros originando, assim, interacções farmacocinéticas relevantes (Marchetti et al, 2007).

O processo de inibição ocorre, maioritariamente, por competição pelo local de ligação do substrato (inibição competitiva) ou por bloqueio do processo de hidrólise do ATP (inibição não competitiva) e, conforme o inibidor em questão, um ou ambos os processos podem ocorrer. Contudo, como a P-gp apresenta diversos locais de ligação, é possível que dois substratos se liguem simultaneamente à proteína e interajam alostericamente entre si, sendo esta interacção válida, também, para o processo de indução (Lin & Yamazaki, 2003).

Os primeiros fármacos identificados como inibidores da P-gp consistiam em fármacos de uso corrente em Medicina Humana e alvo de transporte pela própria P-gp (ex: verapamil e ciclosporina A) pelo que receberam a designação de inibidores de primeira geração, categoria na qual se incluem diversos outros fármacos de uso clínico, como os referidos na tabela 2. Surgiram, posteriormente, outros inibidores desenvolvidos especificamente para a avaliação do processo de inibição da P-gp, designados de segunda e terceira gerações, utilizados com o objectivo de obter a reversão celular dos fenómenos de multirresistência a fármacos (Varma et al., 2003; Marchetti et al., 2007). Embora os referidos moduladores proporcionem melhores respostas à terapêutica anticancerígena, o seu uso resulta na inibição, igualmente, potente da P-gp presente em células normais o que propicia o aparecimento de quadros de toxicidade. No geral, o processo de inibição tem um maior impacto na distribuição dos fármacos, principalmente, para órgãos como o cérebro, do que na concentração plasmática dos mesmos (Lin & Yamazaki, 2003).

A P-gp é, usualmente, co-expressa e co-induzida com as isoenzimas CYP3A humanas ao

nível hepático e intestinal por intermédio da activação do receptor nuclear PXR e transcrição do gene *MDR1*, cujos principais ligantes incluem os fármacos rifampicina, paclitaxel, clotrimazol, fenobarbital, fenitoína, mifepristona, nifedipina, entre outros (Xu et al., 2005; Marchetti et al., 2007). Embora a maioria dos fármacos apresente potencial para interacções farmacocinéticas através da via CYP450, é importante salientar que a modulação da actividade da P-gp é igualmente relevante (Oga, Yasaka & Jen, 2003).

O processo de indução da P-gp é, aparentemente, concentração e tempo-dependente na medida em que o grau de expressão da glicoproteína varia de acordo com a concentração do indutor e o tempo de administração do mesmo. O grau de aumento da expressão da P-gp varia, também, de tecido para tecido e de acordo com o indutor em questão verificando-se que, nalguns tecidos, o nível máximo de expressão da P-gp atingido é superior aos demais tecidos e é atingido em tempos diferentes (Lin & Yamazaki, 2003).

A activação do receptor PXR resulta, também, na indução de outros transportadores de membrana, como as proteínas MRP2 e MRP3, existindo evidências de sobreposição de substractos entre a MRP2 e a P-gp, ambas de localização apical nas membranas celulares e de grande importância no controlo da absorção de diversos fármacos (Xu et al., 2005). Para além do receptor PXR, a expressão da P-gp ao nível intestinal é, também, regulada pelos receptores CAR e de ligação à vitamina D (Oostendorp et al., 2009).

Das interacções farmacocinéticas mais relevantes destacam-se a interacção entre a digoxina e o seguinte conjunto de fármacos: quinidina, verapamil, talinolol, espironolactona, claritromicina, eritromicina, itraconazol e propafenona, da qual resulta a inibição do transporte da digoxina pela P-gp. No Homem, como a digoxina é eliminada intacta por via renal, da inibição da P-gp resulta um aumento da absorção da digoxina e uma diminuição da sua eliminação renal (Lin & Yamazaki, 2003; Oga et al., 2003; Marchetti et al., 2007). O verapamil nos ratos e a eritromicina nos humanos interferem, também, na absorção intestinal do beta-bloqueador talinolol com diminuição da sua biodisponibilidade oral, ao inibirem a actividade da P-gp. Outro exemplo clássico das possíveis consequências da inibição da P-gp é o quadro de cardiotoxicidade resultante da concomitante administração da doxorubicina e da ciclosporina A, esta última conhecida como um potente inibidor da P-gp (Balayssac et al., 2005). Embora o potencial risco associado ao processo de inibição da P-gp, este pode ser benéfico, nalguns casos, como na terapia antineoplásica, na qual conseguimos maior eficácia com maior acesso dos fármacos antineoplásicos às células tumorais através da inibição da P-gp (Oga et al., 2003).

É, também, de salientar a interacção entre a rifampicina e os fármacos digoxina, talinolol e ciclosporina A, na qual ocorre indução da actividade da P-gp pela rifampicina,

principalmente, ao nível intestinal e em quadros de exposição prolongada ao fármaco, com o consequente aumento da eliminação dos referidos fármacos (Lin & Yamazaki, 2003; Marchetti et al., 2007).

No geral, a complexidade dos mecanismos moleculares subjacentes aos processos de inibição e indução da P-gp, torna difícil a capacidade de previsão, qualitativa e quantitativamente, de potenciais interacções farmacocinéticas envolvendo esta proteína (Lin & Yamazaki, 2003).

1.2.1.2. Proteínas MRP e BCRP: contribuição para o fenótipo de multirresistência a fármacos e interacções farmacocinéticas

A superfamília ABC inclui outras proteínas envolvidas na multirresistência a fármacos (Sparreboom, Danesi, Ando, Chan & Figg, 2003). Da família MRP foram já identificados nove genes (*MRP1-9*), seis dos quais (*MRP1-6*) foram já caracterizados ao nível da sua actividade transportadora, mais especificamente, no transporte de fármacos anticancerígenos. Destas, destacam-se as proteínas MRP1 e MRP2 (Sparreboom et al., 2003; Oostendorp et al., 2009).

A proteína MRP1 é codificada pelo gene *ABCC1* e é o principal transportador de aniões orgânicos, como os conjugados de glutathione, para o exterior das células. A sua distribuição nos tecidos normais é bastante similar à da P-gp, apresentando níveis elevados nos testículos, pulmões, rins, músculos estriados esquelético e cardíaco e placenta. Localiza-se predominantemente na membrana plasmática basolateral das células, por oposição à P-gp, cuja localização é maioritariamente apical, pelo que a extrusão de substâncias é feita para o espaço intersticial e não para os espaços lumenais dos órgãos. Por estar envolvida no transporte de substâncias dependentes da conjugação com a glutathione para serem eliminadas, considera-se que a MRP1 assume um papel relevante na protecção das células contra o stress oxidativo. É, também, responsável pelo transporte de leucotrienos, como o leucotrieno C₄, moléculas envolvidas na inflamação e cujo transporte pode ser necessário para a conservação da resposta celular contra o estímulo inflamatório e prevenção de danos celulares. Apesar da semelhança nos perfis de resistência entre a P-gp e a MRP1, estas diferem na selectividade dos substratos: a P-gp transporta essencialmente compostos lipofílicos neutros ou levemente positivos enquanto a MRP1 é capaz de transportar compostos aniónicos lipofílicos (Oostendorp et al., 2009;).

A proteína MRP2 ou cMOAT (*canalicular Multiple Organic Anion Transporter*) é expressa, maioritariamente, na face apical dos hepatócitos normais que revestem os canalículos biliares e na face apical dos enterócitos sendo responsável pelo transporte de aniões orgânicos, entre

os quais a bilirrubina (Sparreboom et al., 2003). A ausência desta proteína está na base de uma síndrome hereditária que ocorre em humanos, a síndrome de Dubin-Johnson, caracterizada por hiperbilirrubinémia persistente (Schrickx & Fink-Gremmels, 2008).

A proteína BCRP, um dos últimos membros da superfamília ABC a ser caracterizado, foi inicialmente identificada numa linhagem celular de neoplasia mamária, de onde deriva a sua designação. A sua expressão não se limita às células do tecido mamário, nem tão pouco a células neoplásicas, estando presente, de forma predominante, no sinciotrofoblasto placentário, epitélio do intestino delgado e cólon, sistema canalicular do fígado e ductos e lóbulos mamários. O gene *ABCG2* é evolutivamente distinto dos outros membros da superfamília pois, ao contrário da maioria, tais como os genes *MDR1* e *MRP1*, codifica um hemi-transportador que requer homo ou heterodimerização para exercer a sua função. É capaz de transportar diferentes tipos de substâncias incluindo citotóxicos, toxinas e carcinogénios encontrados em produtos de origem alimentar, bem como, compostos endógenos (Sparreboom et al., 2003; Schrickx & Fink-Gremmels, 2008). É também responsável pela extrusão de diversos fármacos antineoplásicos, tais como, a doxorubicina, a mitoxantrona e o topotecano, justificando a sua forte associação à resistência a fármacos antineoplásicos detectada em diversas neoplasias mamárias, entre outro tipo de neoplasias. Esta proteína assume, em termos gerais, um papel de grande relevância na biodisponibilidade oral de diversos fármacos (Oostendorp et al., 2009; Giacomini et al., 2010).

As proteínas MRP e BCRP, à semelhança da P-gp, são alvo de polimorfismos genéticos, principalmente, do tipo SNP embora a grande maioria das mutações que ocorrem, não origine alterações significativas na função e/ou expressão proteica (Zhang et al., 2005). São igualmente passíveis de inibição por diversas substâncias (vide tabela 3), embora dos respectivos perfis de selectividade para os diversos transportadores exista ainda pouco conhecimento o que impossibilita a determinação de qual a contribuição de cada transportador para uma interacção específica (Sparreboom et al., 2009).

Tabela 3. Proteínas MRP e BCRP de origem humana: principais substratos e inibidores (adaptado de Sparreboom et al., 2003; Giacomini et al., 2010)

Proteína (Gene)	Principais substratos	Principais inibidores
MRP1 (ABCC1)	Clorambucil, Daunorrubicina, Doxorubicina, Etoposido, Metotrexato, Vincristina	Biricodar, Ciclosporina A, Ácido glutathiona etacrínico, Clotrimazol
MRP2 (ABCC2)	Conjugados de glutathiona e glucurónidos, Metotrexato, Etoposido, Mitoxantrona, Valsartan, Olmesartan	Ciclosporina, Delaviridina, Efavirenz, Emtricitabina
BCRP (ABCG2)	Mitoxantrona, Metotrexato, Topotecano, Imatiniba, Irinotecano, Estatinas, Conjugados de sulfato, Porfirinas	Estrona, 17 β -estradiol, Fumitremorgina C

1.2.2. Transportadores SLC

Por oposição à superfamília ABC, a maioria dos transportadores da superfamília SLC não requer energia proveniente de moléculas de ATP e efectuam o transporte de acordo com o gradiente de concentração da substância em causa. Estes transportadores localizam-se em diversos órgãos, predominantemente ao longo do tracto GI na face apical das células epiteliais, apresentando níveis de expressão muito variáveis (Oostendorp et al., 2009).

Diversas proteínas foram já descritas, encontrando-se agrupadas em 47 famílias (SLC1-47). Destas proteínas, pelo seu impacto na farmacocinética de diversos fármacos e pelo seu envolvimento em possíveis interacções, destacam-se as seguintes: transportador de péptidos (*peptide transporter* (PEPT)) 1, polipéptido transportador de aniões orgânicos (*organic anion transporting polypeptide* (OATP)) 1B1, OATP2B1, transportador de catiões orgânicos (*organic cation transporter* (OCT)) 1, OCT2, transportador de aniões orgânicos (*organic anion transporter* (OAT)) 1, OAT3 e *multidrug and toxin extrusion* (MATE) 1. A proteína PEPT1 é codificada pelo gene *SLC15A1* e pertence à família SLC15 responsável pelo co-transporte de diversos oligopéptidos e protões; as proteínas OATP1B1 (OATP-C) e OATP2B1 (OATP-B) são codificadas pelos genes *SLCO1B1* e *SLCO2B1*, respectivamente, e pertencem à família SLCO, constituída por polipéptidos transportadores de aniões orgânicos, designados OATP, responsáveis pelo transporte de substâncias endógenas, como os ácidos biliares, participando na sua circulação enterohepática, sendo este transporte dependente do ATP e independente do sódio (Na⁺); as proteínas OCT1, OCT2, OAT1 e OAT3 são codificadas pelos genes *SLC22A1*, *SLC22A2*, *SLC22A6* e *SLC22A8*, respectivamente, e pertencem à família SLC22, constituída por: transportadores de catiões orgânicos, designados

OCT's, transportadores de zwitteriões/catiões, designados *zwitterion/organic transporters* (OCTN's) e transportadores de aniões orgânicos, designados OAT's; por último, a proteína MATE1, é codificada pelo gene *SLC47A2* e pertence à família SLC47, cujos transportadores são responsáveis pela extrusão de múltiplos fármacos e toxinas (Oga et al., 2003; Giacomini et al., 2010; King, 2010).

À semelhança de todos os transportadores descritos até ao momento, também as proteínas da superfamília SLC são alvo de variabilidade interindividual, com origem em factores genéticos, tais como o polimorfismo genético, e factores não genéticos. São passíveis de inibição por diversas substâncias e apresentam sobreposição de especificidade dos substratos entre si e com a P-gp (vide anexo 1), o que favorece a ocorrência de interacções farmacocinéticas (Oga et al., 2003; Giacomini et al., 2010).

1.3. Previsibilidade das interacções farmacocinéticas: aplicação e caracterização de modelos *in vitro* e *in vivo*

Durante o desenvolvimento de novos fármacos, pela indústria farmacêutica, uma das componentes mais importantes no estabelecimento dos perfis de segurança e eficácia das novas moléculas, é o estudo de possíveis interacções farmacológicas. Apesar da actual existência de diversos modelos de avaliação e caracterização destas interacções, é comum, ainda hoje, a remoção de alguns fármacos após a sua colocação no mercado, por terem sido reportadas reacções adversas devidas a interacções não descritas anteriormente. A capacidade de previsão destes acontecimentos é, portanto, de extrema importância em clínica quer na selecção de regimes terapêuticos, quer no ajuste de doses terapêuticas. Passa por determinar, relativamente a uma nova molécula em desenvolvimento: qual ou quais as enzimas responsáveis pelo seu metabolismo, qual ou quais os fármacos passíveis de inibirem ou induzirem essas enzimas e qual o seu papel como possível inibidor ou indutor do CYP450 e das principais proteínas transportadoras de membrana (Zhang, Zhang & Huang, 2009; Zhang, Reynolds, Zhao & Huang, 2010).

Tal como referido anteriormente, o CYP450 é o principal interveniente nas interacções farmacocinéticas pelo que, todos os modelos aplicados no âmbito da pesquisa deste tipo de interacções, incluem estudos baseados neste sistema enzimático e respectivos substratos, inibidores e indutores (Zhang et al., 2010).

Relativamente ao processo de inibição da sua actividade enzimática, este pode ser estudado e previsto com base em modelos *in vitro*, recorrendo a células de tecido humano (hepatócitos e respectivo sistema microsomal), com determinação dos parâmetros farmacocinéticos dos

fármacos inibidores de determinada isoenzima e com a avaliação do padrão de modificação das concentrações plasmáticas dos fármacos substrato, através do cálculo do factor de aumento dos respectivos valores da AUC (Hisaka et al., 2010; Ito & Sugiyama, 2010). As principais dificuldades impostas a este tipo de modelo de avaliação incluem: a determinação precisa da fracção livre dos fármacos inibidores no local de acção enzimática (parâmetro muito importante para a caracterização quantitativa das interacções farmacocinéticas), a determinação da constante de dissociação do complexo enzima-inibidor (K_i) (quanto menor for o seu valor para um determinado composto maior é a afinidade deste para a enzima em questão), e a avaliação da contribuição de eventuais metabolitos produzidos para a interacção (muitos fármacos inibidores poderão surgir na forma de pró-fármacos) (Hisaka et al., 2010). Há que ter ainda em consideração que, grande parte dos fármacos, não apresenta apenas uma única via metabólica pelo que, se apenas se considerar a via hepática como a principal via metabólica, pode sobrevalorizar-se os efeitos inibitórios dos fármacos inibidores (Ito & Sugiyama, 2010).

A caracterização da inibição em reversível ou irreversível é, também, um ponto crítico na interpretação *in vitro* das interacções farmacocinéticas tendo em conta que, na inibição irreversível, é a própria conformação enzimática que se encontra alterada e não somente o seu nível de actividade, o que leva a um padrão específico de aumento da concentração plasmática e diminuição da *clearance* intrínseca. Na inibição irreversível destaca-se, também, o facto de o processo de inactivação enzimática se estender tipicamente por vários dias a semanas sendo um processo concentração e tempo dependente, no qual se atinge um *plateau* ou ponto de equilíbrio onde a taxa de inactivação iguala a taxa da nova síntese enzimática (Hisaka et al., 2010). A incidência e gravidade dos efeitos adversos da inibição enzimática irreversível são superiores às da inibição reversível precisamente pelo facto de, na primeira, o efeito de inibição permanecer mesmo após a eliminação do fármaco inibidor do organismo (Ito & Sugiyama, 2010).

Adicionalmente à avaliação *in vitro* do processo de inibição do CYP450, modelos *in vivo* devem ser desenvolvidos para se prever a magnitude das interacções farmacocinéticas. Alguns modelos, como o desenvolvido por Hisaka et al. (2010), têm por base a determinação de dois parâmetros: a taxa de contribuição (CR) da actividade da enzima alvo de inibição para a eliminação dos fármacos substrato após absorção oral e a taxa de inibição (IR) da enzima em questão pelos fármacos inibidores administrados. O parâmetro CR possibilita-nos prever qual a sensibilidade dos fármacos substrato à inibição das isoenzimas responsáveis pelo seu metabolismo e o parâmetro IR, por ser constante no tempo e para diferentes substratos, permite inferir sobre o impacto da farmacocinética dos fármacos inibidores na interacção.

A indução enzimática do CYP450 pode, também, ser previamente analisada *in vitro* através da determinação do aumento da actividade enzimática metabólica embora este parâmetro seja difícil de determinar de forma precisa dado exigir a replicação da actividade enzimática que ocorre nas células humanas por um período de tempo equiparável ao que se verifica *in vivo* (Hisaka et al., 2010). De acordo com Zhang et al. (2010), considera-se um fármaco como indutor enzimático aquele que provoca um aumento da actividade enzimática de uma determinada cultura de células hepáticas superior a 40%, comparativamente a uma cultura celular controlo.

O método que permite uma avaliação mais aproximada da realidade da indução enzimática consiste na determinação da produção de ARN mensageiro (ARNm), como indicador do aumento da síntese enzimática (Hisaka et al., 2010).

No geral, a previsibilidade dos métodos *in vitro* é limitada pelo que, quando se procede a uma avaliação quantitativa do potencial interactivo farmacocinético de uma nova molécula, estes métodos devem ser sempre complementados com estudos clínicos *in vivo*, baseados em modelos matemáticos adequados (Hisaka et al., 2010).

Actualmente, um dos maiores desafios nesta área consiste em determinar qual o impacto do transporte membranar de fármacos nas possíveis interacções farmacocinéticas que lhe estão associadas, dado estar comprovado que os fármacos substrato, bem como, os fármacos inibidores ou indutores de determinada isoenzima podem, também, desempenhar o mesmo papel no que respeita às principais proteínas transportadoras de membrana presentes quer nas células humanas, quer animais (Zhang et al., 2009; Hisaka et al., 2010). Para ultrapassar esta questão, novos modelos *in vitro* estão a ser desenvolvidos com o objectivo de determinar se uma nova molécula é substrato, inibidor ou indutor das principais isoenzimas do CYP450 envolvidas no metabolismo hepático e se o é, simultaneamente, da P-gp, entre outros transportadores de membrana relevantes, como o caso da proteína humana OATP (Zhang et al., 2009). Nestes modelos, sugere-se a utilização de linhas celulares específicas, nomeadamente: células Caco 2 (células obtidas a partir de adenocarcinoma de cólon humano que, em cultura celular, se diferenciam em enterócitos), células MDCK (*Madin-Darby canine kidney*)-MDR1 (obtidas a partir de um modelo de células de rim canino) e células MDR1-LLC-PK1 (*Porcine kidney derived-renal epithelial cell line*) (obtidas a partir de um modelo de células epiteliais de rim porcino) (Souza, Freitas e Storpiotis, 2007). Nestas linhas celulares avalia-se o fluxo da nova molécula no sentido basolateral-apical e no sentido apical-basolateral, com posterior determinação do quociente entre ambos. Se o valor do quociente for ≥ 2 e se a associação de inibidores da P-gp promover um decréscimo desse valor superior a 50% ou para valores próximos de 1, então, pode afirmar-se que a nova molécula é um

substrato da P-gp e que pode ser alvo de alterações farmacocinéticas (Zhang et al., 2010).

Para avaliar se a nova molécula é um potencial inibidor da P-gp determina-se o mesmo quociente para um fármaco substrato específico da referida proteína com adição de concentrações crescentes da molécula em avaliação; se o valor desse quociente decrescer confirma-se que esta é um potencial inibidor. O cálculo dos parâmetros K_i e IC_{50} (concentração que inibe 50% da actividade P-gp, neste caso) permite aferir acerca do grau de inibição promovido pela molécula (Zhang et al., 2010).

Em todo o processo de avaliação das interacções farmacocinéticas é cada vez mais relevante que testes farmacogenéticos sejam desenvolvidos de modo a determinar-se *in vivo* os diferentes genótipos associados às interacções mais frequentes *in vitro* e de modo a determinar-se a sua prevalência na população em geral não esquecendo que, determinadas interacções, poderão ocorrer apenas num número muito reduzido de indivíduos (Zhang et al., 2009; Hisaka et al., 2010). Por detrás de um fenótipo residem múltiplas variantes (das quais destaca o SNP) que, quando determinadas, irão permitir avaliar de forma precisa qual o impacto do polimorfismo das enzimas metabólicas e o impacto dos transportadores e receptores celulares na farmacocinética, farmacodinâmica, eficácia e segurança clínicas de todas as novas moléculas em desenvolvimento (Flockhart, 2005).

De modo a sintetizar toda a informação inerente aos modelos de previsão e avaliação das interacções farmacocinéticas disponíveis, podem elaborar-se árvores de decisão tornando a informação mais acessível e mais facilmente aplicável embora, os princípios subjacentes a qualquer uma delas devam ser os mesmos: conhecimento do impacto do metabolismo e interacções farmacocinéticas na avaliação do benefício *versus* risco de determinado fármaco; utilização de modelos de avaliação que incorporem informação *in vitro* e *in vivo* dos mecanismos metabólicos e de transporte subjacentes aos fármacos em avaliação, por forma a reduzir o número de abordagens necessárias na tomada de decisão; utilização de modelos farmacocinéticos fisiológicos para o estudo simultâneo de múltiplas interacções; conhecimento dos principais fármacos inibidores e indutores das isoenzimas do CYP450 e das proteínas transportadoras de membrana, bem como, os substratos com maior sensibilidade à inibição e indução; processamento da informação resultante dos estudos realizados de modo a que esta seja integrada no resumo das características do medicamento após aprovação para colocação no mercado (Ito & Sugiyama, 2010; Zhang et al., 2010).

A selecção de um modelo de estudo em particular depende de inúmeros factores relacionados, principalmente, com o tipo de utilização terapêutica dos fármacos, entre os quais se salientam: a administração a curto prazo *versus* a administração crónica de fármacos substrato e/ou inibidores; os respectivos índices terapêuticos e riscos associados em caso de o mesmo ser

estreito (ou seja, quando a dose tóxica média é muito próxima da dose eficaz média); as características farmacocinéticas/farmacodinâmicas dos fármacos seleccionados para o estudo, bem como, dos fármacos mais utilizados na população alvo e que tenham potencial interactivo (Zhang et al., 2010).

2. Incidência e prevenção das interacções farmacológicas

Uma das principais causas de hospitalização, de aumento do tempo de permanência hospitalar, aumento da morbilidade e, até mesmo, da mortalidade são as reacções adversas a fármacos. A Organização Mundial de Saúde (OMS) define reacção adversa como “qualquer efeito prejudicial ou indesejável, não intencional, que aparece após a administração de um medicamento em doses normalmente utilizadas no homem para a profilaxia, o diagnóstico e o tratamento de uma enfermidade” (Magalhães & Carvalho, 2001).

A terapêutica, em regime hospitalar, com um número elevado de fármacos predispõe, tal como referido anteriormente, para a ocorrência de interacções farmacológicas (Mealey, 2006) que, por sua vez, são um dos factores mais predisponentes para a ocorrência de reacções adversas, entre outros, como a idade, severidade da doença, quando presente, e tipo de fármaco prescrito (Bertoli et al., 2010). Diversos estudos realizados no âmbito da Medicina Humana comprovam este último facto: em 2002, um estudo inglês levou à conclusão de que 16,5% dos casos analisados de admissão hospitalar por reacções adversas se deveram a interacções farmacológicas (Pirmohamed et al., 2004); em 2005, um estudo realizado no departamento médico de um hospital universitário na Grécia permitiu concluir que 15,7% das admissões hospitalares por reacções adversas resultaram da combinação de dois ou mais fármacos com o mesmo tipo de reacções adversas e que a probabilidade de admissão por ocorrência destas reacções foi superior em pacientes a tomarem quatro ou mais fármacos ($P = 0,011$) (Alexopoulou et al., 2008); em 2007, de um estudo realizado na Suíça, no hospital Ospedale Regionale di Lugano, conclui-se que, de 200 pacientes observados, 62,5% foram alvo de terapêutica passível de originar pelo menos uma interacção, tendo sido identificadas, no total, 373 interacções; dos fármacos prescritos, os mais implicados na estatística observada foram os anticoagulantes orais (responsáveis por 13,5% das interacções descritas), os beta-bloqueadores (8,8%), os antiagregantes plaquetários (7,3%), os diuréticos (6,8%), os inibidores da enzima conversora da angiotensina (IECA's) (6,6%) e os agentes antidiabéticos (6,2%) (Bertoli et al., 2010); em 2009, um estudo realizado na Roménia, levou à conclusão de que 25,9% das reacções adversas detectadas antes (e como causa da admissão hospitalar) e durante o período de hospitalização dos pacientes observados foram secundárias a interacções

farmacológicas, com destaque para o envolvimento do acenocumarol em, aproximadamente, metade das interacções detectadas (Farcas et al., 2010).

Em Medicina Veterinária escasseiam os estudos realizados no âmbito da incidência das interacções farmacológicas, particularmente, as interacções farmacocinéticas embora, à semelhança do que é observado em regime hospitalar humano, os protocolos terapêuticos em Medicina Veterinária sejam cada vez mais complexos tendo em conta a crescente vaga de novos conhecimentos e novos fármacos que vão estando ao dispor dos profissionais de saúde (Maddison & Page, 2008). Destaca-se um estudo realizado no ano 2000, num hospital veterinário escolar do estado de Washington, no qual 801 pacientes, felinos e caninos, hospitalizados na unidade de cuidados intensivos foram avaliados para potenciais interacções farmacológicas, com destaque para as interacções farmacocinéticas. Neste estudo, foram identificadas e caracterizadas 97 interacções em 67 pacientes, das quais 36 ocorreram em pacientes com doença neurológica, 30 com doença cardiovascular e 21 com doença respiratória (Larson, 2002).

Na grande maioria dos casos, o não reconhecimento destes acontecimentos prende-se com a dificuldade em identificar reacções adversas. Estas caracterizam-se, frequentemente, por sinais clínicos não específicos e raramente patognomónicos da reacção a que estão subjacentes. A existência de uma doença e a prescrição de terapêuticas múltiplas e complexas gera ainda mais dificuldade na detecção de possíveis interacções (Maddison & Page, 2008).

Como referido anteriormente, um dos maiores obstáculos ao desenvolvimento de uma conduta padronizada de avaliação de potenciais interacções farmacológicas *in vivo* e no âmbito da prática clínica, passa pela extensa variabilidade populacional observada quer em Medicina Humana, quer em Medicina Veterinária. Nesta última, factores como, espécie, raça, sexo, idade, condição fisiológica, funções hepática, renal e cardíaca, meio ambiente e até mesmo a alimentação, devem ser tidos em conta aquando da avaliação dos parâmetros farmacocinéticos e farmacodinâmicos das substâncias activas prescritas (Modric & Martinez, 2007).

A importância da espécie na selecção quer das substâncias activas a administrar, quer do respectivo regime terapêutico (via, dose e duração) é já de conhecimento comum. Embora algumas extrapolações possam ser feitas, principalmente entre canídeos e felídeos, observam-se diferenças entre estas duas espécies na farmacocinética das mais diversas substâncias, com destaque para as principais vias metabólicas, quer a nível enzimático quer a nível de receptores celulares (Maddison & Page, 2008).

No Homem, determinadas isoenzimas do CYP450, entre outras enzimas hepáticas, apresentam maior actividade e expressão nos indivíduos do sexo masculino do que do sexo

feminino sendo igualmente evidente a influência do género noutras espécies, das quais se destaca o rato. O género é igualmente importante nos canídeos e felídeos dado o seu impacto na resposta fisiológica aos diferentes fármacos (Modric & Martinez, 2007).

A idade é reconhecidamente um factor de grande impacto no acto da terapêutica: os neonatos apresentam uma reduzida capacidade de biotransformação relacionada com a imaturidade das diversas funções orgânicas, como as funções hepática e renal; já os pacientes geriátricos, devido ao processo de senescência, apresentam frequentemente insuficiência multiorgânica que afecta igualmente os principais parâmetros farmacocinéticos e farmacodinâmicos (Modric & Martinez, 2007; Maddison & Page, 2008).

A presença de uma doença, principalmente a nível GI, renal, hepático e cardiovascular, pode também afectar, negativamente, a farmacocinética e farmacodinâmica e exigir adaptações aos protocolos terapêuticos padrão. Na doença renal crónica, a perda de nefrónios funcionais levam à diminuição da eliminação dos fármacos, com aumento das concentrações plasmáticas, aumento este agravado pela desidratação e perda de proteína. É comum a potenciação do efeito nefrotóxico de determinados fármacos por lesões pré-existentes e, nos pacientes com alterações GI secundárias à doença, a biodisponibilidade oral é, também, afectada, com aumento da mesma em quadros de aumento da permeabilidade intestinal ou diminuição em situações de vômito (Lefebvre, 2007; Maddison & Page, 2008). Sendo o fígado o principal órgão envolvido no metabolismo dos fármacos e, tendo em conta a vasta panóplia destes que é sujeita ao processo de biotransformação enzimática, podem resultar alterações significativas na biodisponibilidade dos fármacos, bem como, no seu efeito farmacológico, se houver presença de uma doença hepática. Estas alterações relacionam-se directamente com a lesão hepatocelular e perda das principais estruturas enzimáticas e, indirectamente, com as consequências clínicas da doença, manifestadas através de sinais clínicos como febre, anorexia, hipoproteinémia e icterícia, entre outros. A absorção e distribuição dos fármacos pode igualmente ser afectada pela presença de uma doença cardiovascular na medida em que uma ligeira alteração na perfusão tecidular com redistribuição da circulação sanguínea, em associação ou não com quadros de desidratação, é suficiente para comprometer a biodisponibilidade dos fármacos (Maddison & Page, 2008).

Várias estratégias podem ser aplicadas no âmbito da prevenção deste tipo de acontecimentos sendo de salientar: a obtenção de uma boa história pregressa, nomeadamente no que respeita a fármacos já utilizados, tendo sempre presente qual ou quais os quadros patológicos que devem ser tratados; o conhecimento de que quantos mais medicamentos prescritos e a serem administrados, maior o risco de interações; e em caso de dúvida ou falta de conhecimentos, o recurso, sempre que necessário, a instrumentos de decisão. A inexistência de informação

facilmente acessível, particularmente, nas principais e mais acessíveis fontes bibliográficas sobre esta área de tão intensa expressão no âmbito da terapêutica hospitalar e ambulatoria, origina, aquando da prescrição de um grande número de fármacos, falta de um bom conhecimento dos mesmos no que diz respeito às suas possíveis interações (Shapiro & Shear, 2001; Santiago, 2003). Desta realidade resulta uma baixa taxa de notificação para o Sistema Nacional de Farmacovigilância estimando-se que, mais de 95% das reacções adversas associadas à terapêutica com determinado(s) fármaco(s) não seja reportada (Santiago, 2003; Maddison & Page, 2008). Sendo a notificação de reacções adversas um dos elementos chave para o fortalecimento dos sistemas de monitorização da segurança dos fármacos, um grande esforço informativo e formativo deve ser feito por parte de todas as entidades directa e indirectamente ligadas à prática de clínica de animais de companhia, de modo a que a detecção de problemas de segurança desconhecidos e a identificação e quantificação de riscos seja cada vez mais precoce (Ivama & Souza, 2005).

3. Interações farmacológicas clinicamente relevantes no âmbito da clínica dos animais de companhia

Apesar de todas as dificuldades na avaliação e determinação de potenciais interações farmacológicas no âmbito da clínica dos animais de companhia, esta é uma área de estudo e investigação em ascensão, sendo necessário cada vez mais informação e espírito crítico na interpretação e aplicação dos conceitos subjacentes a este tema.

Embora os fármacos ao dispor da Medicina Veterinária sejam cada vez mais numerosos, diversificados e complexos, pertencendo às mais variadas classes terapêuticas, e embora cada fármaco seja uma potencial fonte de reacções adversas, como consequência ou não de possíveis interações, a grande maioria dos fármacos, quando devidamente usados, é relativamente segura do ponto de vista da segurança farmacológica. Deste modo, o número de interações descrito e comprovado por estudos científicos *in vivo* é reduzido.

Com base na revisão bibliográfica realizada pela autora, descrevem-se, de seguida, as interações farmacológicas mais relevantes no âmbito da clínica dos animais de companhia, descritas até à data.

3.1. Fármacos antimicrobianos: antibióticos e antimicóticos

A absorção oral das fluoroquinolonas pode ser diminuída ou até mesmo inibida pela administração oral concomitante de cations divalentes ou trivalentes (Mealey, 2006). As

quinolonas formam frequentemente complexos insolúveis, designados quelantes, quando em contacto com este tipo de catiões, presentes na dieta, em antiácidos e até mesmo em suplementos vitamínicos. Pode, assim, ocorrer um decréscimo da biodisponibilidade oral do antimicrobiano quando administrado em simultâneo e pela mesma via com: antiácidos contendo alumínio (Al^{3+}), magnésio (Mg^{2+}), cálcio (Ca^{2+}) ou zinco (Zn^{2+}); sucralfato, que também contém alumínio (Al^{3+}); produtos à base de ferro e multivitamínicos contendo zinco. Para redução desta interacção, deve garantir-se um intervalo mínimo de duas horas entre a administração dos fármacos ou, quando possível, interromper a administração de todos os produtos que possam conter os referidos catiões durante o tempo de terapêutica com as quinolonas (Plumb, 2005; Ramsey, 2008; Gómez-Moreno, Guardia, Cutando & Calvo-Guirado, 2009).

Ainda na classe das fluoroquinolonas, a enrofloxacin, se administrada em simultâneo com anti-inflamatórios não esteróides (AINE's), como os derivados dos ácidos propiónico e mefenâmico, pode provocar excitação do SNC e até mesmo convulsões, pelo facto de competir por receptores para o GABA (o principal neurotransmissor inibidor do SNC com um papel importante na regulação da excitabilidade neuronal), diminuindo o limiar da convulsão e impedindo a transmissão neuromuscular (Plumb, 2005; Ramsey, 2008). A enrofloxacin e a flunixin meglumina, um AINE derivado do ácido nicotínico, aumentam mutuamente as respectivas concentrações plasmáticas (Martín-Jiménez, 2010). Quando em simultâneo com metilxantinas, como a teofilina, a enrofloxacin pode provocar um quadro de toxicidade dado promover um aumento da sua concentração plasmática (Mealey, 2006). Na verdade, esta interacção ocorre indirectamente com a molécula de ciprofloxacina, que é um dos principais metabolitos resultantes da metabolização hepática da enrofloxacin (Martinez, McDermott & Walker, 2006). A ciprofloxacina, por sua vez, é um potencial inibidor da isoenzima CYP1A2 do CYP450 quer no Homem, quer no cão, resultando desta inibição a diminuição da biotransformação dos substratos da referida isoenzima, entre os quais se inclui e é comum às duas espécies, a teofilina (Trepanier, 2008; Gómez-Moreno et al, 2009). Estudos realizados *in vitro* demonstraram que este efeito inibidor se aplica à ofloxacina, orbifloxacina e ciprofloxacina embora, *in vivo*, o efeito tenha sido demonstrado principalmente para a enrofloxacin e em menor proporção para a marbofloxacina (Martín-Jiménez, 2010).

Os macrólidos, como a eritromicina e a claritromicina inibem o metabolismo de diversos substratos do sistema CYP450 (Mealey, 2006), principalmente, através da formação *in vivo* de complexos CYP450-Fe(II)-metabolito inactivos. Entre esses substratos destacam-se a carbamazepina, teofilina, cafeína, terfenadina, triazolam, felodipina, digoxina, varfarina, metilprednisolona, ciclosporina, alfetanilo, entre outros. No entanto, o metabolismo de tais

fármacos, quando administrados por via oral, pode igualmente ser inibido pela acção antimicrobiana exercida na flora intestinal (à semelhança dos demais antimicrobianos), bem como, pelo aumento do esvaziamento gástrico através de um efeito similar ao da motilina (Anadón & Reeve-Johnson, 1999).

O cloranfenicol ao inibir a isoenzima canina e felina CYP2B11 promove uma diminuição da biotransformação do fenobarbital com potenciação do efeito sedativo e aumento do risco de toxicidade verificando-se o mesmo para a fenitoína e o propofol, observando-se, neste último caso, predisposição rárca (Chicoine, 2008; Martín-Jiménez, 2010).

Os antifúngicos azólicos cetoconazol e itraconazol, muito usados nos animais de companhia no tratamento de micoses superficiais, subcutâneas e sistémicas, requerem um pH gástrico ácido para uma optimização da sua absorção oral pelo que a administração de fármacos antiácidos, antagonistas dos receptores H_2 e inibidores da bomba de protões, deve ser evitada em todos os pacientes cuja terapêutica em curso inclua os referidos antifúngicos (Mealey, 2006; Trepanier, 2008).

O cetoconazol é um potente inibidor do sistema CYP450 bem como da P-gp estando na origem de diversas interacções, com diminuição da biotransformação e/ou transporte de diversos fármacos, tais como: a ciclosporina, a digoxina, a amitriptilina, o midazolam, a varfarina, entre outros (Mealey, 2006; Chicoine, 2008; Trepanier, 2008). A associação intencional do cetoconazol com a ciclosporina tem sido muito discutida na medida em que proporciona a redução da dose de ciclosporina necessária para atingir os níveis plasmáticos desejados, com redução dos custos associados a esta terapêutica, particularmente em cães de raças grandes. No entanto, tal associação exige uma monitorização acentuada da evolução da terapêutica e da resposta do paciente, na medida em que o cetoconazol, à semelhança da maioria dos fármacos, não é inócuo nem isento de reacções adversas. Esta monitorização passa, por um lado, pela monitorização do estado geral do paciente feita pelos proprietários e por outro, feita pelo clínico, através do exame físico e realização de análises gerais, como hemograma e análises bioquímicas, podendo, nalguns casos recorrer-se ao doseamento das concentrações plasmáticas da substância activa (Chicoine, 2008).

3.2. Fármacos anti-inflamatórios não esteróides

O risco de ulceração gastrointestinal pode ser potenciado aquando da administração concomitante de AINE's e de glucocorticóides pelo que esta associação deve ser evitada. Os AINE's podem também potenciar quadros de nefrotoxicidade quando administrados com diuréticos, como a furosemida. Neste caso, ocorre diminuição da resposta diurética

natriurética e anti-hipertensora à furosemida, por inibição da prostaglandina. A sua associação com anticoagulantes orais pode precipitar quadros hemorrágicos, devido à inibição da função plaquetária que produzem, aumentando a resposta hipoprotrrombinémica dos anticoagulantes (Mealey, 2006; Infarmed, 2010).

3.3. Fármacos do aparelho digestivo: protectores da mucosa gástrica, modificadores da secreção gástrica e antieméticos

O sucralfato é um sal de octassulfato de sacarose e alumínio que se dissocia em meio ácido e que pode formar complexos com diversos outros fármacos ao nível GI, levando à diminuição da absorção dos mesmos. Alguns dos fármacos envolvidos neste tipo de interacção físicoquímica incluem: as fluoroquinolonas, como já referido, as tetraciclina e a doxiciclina, com redução da sua biodisponibilidade oral, os antagonistas dos receptores H_2 , com atraso na absorção gástrica dos mesmos, a teofilina, aminofilina, digoxina e azitromicina, com diminuição da sua eficácia (Trepanier, 2008).

A cimetidina, antagonista dos receptores H_2 das células parieitais do estômago, é um dos principais fármacos inibidores do sistema CYP450, inibindo múltiplas isoenzimas e estando na origem de diversas interacções farmacocinéticas. A substância activa promove a diminuição da biotransformação do cloranfenicol e do metronidazol, da lidocaína, da teofilina e da aminofilina, de anticoagulantes orais, como a varfarina, do diazepam, midazolam e de diversos beta-bloqueadores, como o propranolol, atenolol e sotalol, entre outros fármacos (Chicoine, 2008; Trepanier, 2008). Como já referido, a ranitidina, a famotidina e a nizatidina, por oposição à cimetidina, não inibem o metabolismo oxidativo hepático (Plumb, 2005; Infarmed, 2010).

O omeprazol, inibidor da bomba de prótons das células parietais do estômago, apresenta capacidade de inibição de algumas isoenzimas humanas do sistema CYP450 podendo interferir no metabolismo de alguns fármacos como o diazepam, o midazolam e a varfarina, com risco de toxicidade associado ao aumento das respectivas concentrações plasmáticas (Trepanier, 2008), estando referido como um potencial indutor do sistema CYP450, no cão (Chicoine, 2008). Ao inibir a secreção ácida, por inibir a ATPase de H^+ e de K^+ , pode interferir na absorção oral de suplementos à base de ferro, bem como, dos antifúngicos azólicos cetoconazol e itraconazol, como referido anteriormente (Trepanier, 2008).

A metoclopramida apresenta efeito antiemético central, por acção em neurónios dopaminérgicos do centro do vômito, bem como, efeito procinético por bloqueio de receptores da dopamina libertada por neurónios inibidores dos plexos murais (Infarmed,

2010). Do seu efeito dopaminérgico e procinéptico resulta a sua potencialidade para diversas interacções: favorece a absorção oral do paracetamol, do ácido acetilsalicílico, entre outras substâncias activas. Se administrada concomitantemente com fenotiazinas, como a clorpromazina e a acepromazina, ou com inibidores selectivos da recaptação da serotonina pode ocorrer exacerbação dos seus efeitos extrapiramidais (Trepanier, 2008).

3.4. Fármacos antiepilépticos e anticonvulsivos: fenobarbital

O fenobarbital, um barbitúrico muito utilizado na terapia anticonvulsiva quer em cães, quer em gatos, é um dos mais potentes indutores do sistema CYP450 no cão, acelerando o metabolismo de diversos fármacos, como os glucocorticóides, o cloranfenicol, o cetoconazol, a lidocaína, a clomipramina, a teofilina, a digoxina, o propranolol, entre diversos outros, conduzindo à diminuição dos seus efeitos sistémicos (Chicoine, 2008; Trepanier, 2008). Além do mais, é ainda classificado como auto-indutor o que se traduz num aumento do próprio metabolismo e na possibilidade de reduzir progressivamente o tempo de eliminação do fármaco, com o tratamento crónico (Mealey, 2006). A administração concomitante de outros fármacos depressores do SNC, como as fenotiazinas, os narcóticos e os anti-histamínicos, bem como, outros fármacos como o ácido valpróico e o cloranfenicol, podem resultar num efeito depressor aditivo, com depressão respiratória e sedação grave (Infarmed, 2010).

3.5. Psicofármacos: antidepressivos tricíclicos, inibidores da monoaminoxidase e inibidores selectivos da recaptação da serotonina

A administração de antidepressivos tricíclicos, como a clomipramina (aprovada para uso em cães) e a amitriptilina, concomitantemente ou no período de duas semanas antes ou após a administração de inibidores da monoaminoxidase, como a selegilina e o amitraz, pode estar na origem da síndrome serotoninérgica. Esta caracteriza-se por um conjunto de sintomas observados após a administração de dois ou mais fármacos que aumentam a concentração de serotonina (5-hidroxitriptamina: 5-HT) (Mealey, 2006; Trepanier, 2008). É o caso dos antidepressivos tricíclicos, que inibem a reabsorção neuronal da noradrenalina e da 5-HT e dos inibidores da monoaminoxidase, que inibem a referida enzima, cuja acção é muito importante na regulação da degradação das catecolaminas e da serotonina no tecido neuronal (Mealey, 2006; Infarmed, 2010). Esta síndrome pode também ser desencadeada pela associação, à terapêutica com inibidores da monoaminoxidase, de inibidores selectivos da recaptação da serotonina (ISRS's), como a fluoxetina e a sertralina, usados ocasionalmente

em cães para controlo de alterações comportamentais que, à semelhança dos antidepressivos tricíclicos, inibem a reabsorção neuronal da 5-HT, mas não da noradrenalina. Por sua vez, os ISRS's, como potenciais inibidores do sistema CYP450, podem inibir o metabolismo oxidativo dos antidepressivos tricíclicos (Mealey, 2006).

3.6. Fármacos diuréticos: furosemida

A furosemida, um potente diurético de ansa, de uso comum nos animais de companhia no tratamento de edemas tecidulares de diversas etiologias (cardiogénica, hepática, inflamatória, entre outras) pode estar na origem de diversas interações farmacológicas. Assim, em associação com aminoglicosídeos, como a amicacina e a gentamicina, a furosemida pode potenciar a sua nefrotoxicidade pelo que a sua associação deve ser evitada. Pode igualmente potenciar a cardiotoxicidade subjacente à terapêutica com digoxina dado poder originar quadros de hipocalémia e hipomagnesiémia, bem como, azotémia pré-renal que, no conjunto ou isoladamente, exacerbam os efeitos tóxicos da digoxina, com aumento dos níveis séricos da digoxina por diminuição da sua excreção renal. O risco de hipocalémia associado à terapêutica com furosemida pode, também, interferir no efeito antiarrítmico da lidocaína, administrada em quadros de arritmia ventricular (Trepanier, 2008).

III. Estudo retrospectivo de 25 casos de canídeos e felídeos em regime hospitalar: pesquisa de interacções farmacológicas clinicamente relevantes

1. Introdução e Objectivos

No âmbito da clínica dos animais de companhia, seja em regime hospitalar ou ambulatorio, são diversos os factores a serem considerados aquando da instituição de uma terapêutica.

A primeira realidade que deve estar presente é a de que cada paciente é um indivíduo que comporta em si particularidades inigualáveis que podem, em determinadas circunstâncias, superar os padrões subjacentes aos conceitos de espécie e raça. Mas sendo necessário e indispensável à prática clínica, o estabelecimento de linhas de raciocínio e de condutas padronizadas e sendo inegável que, em determinadas circunstâncias, o conceito de população pode sobrepor-se ao conceito de indivíduo, diversos factores podem ser utilizados para guiar o clínico na abordagem de cada paciente, tais como: espécie, raça, sexo, idade, condição fisiológica, habitat, estado de saúde, entre outros.

Para a grande maioria das doenças existem diversos estudos nos quais são avaliados e propostos protocolos terapêuticos padrão e que servem de orientação à prática clínica. No entanto, a maioria é realizada em populações bem caracterizadas, por vezes, pouco representativas e na ausência de patologias concomitantes. Na prática do dia a dia, o clínico é confrontado com pacientes das mais diversas faixas etárias, de ambos os sexos e com as mais variadas doenças, muitas vezes concomitantemente, o que exige a instituição de protocolos terapêuticos com múltiplos fármacos, dificultando a monitorização e interpretação de todos os parâmetros necessários à avaliação da progressão das doenças. A dificuldade em identificar reacções adversas, bem como, em identificar a causa subjacente a estas leva, muitas vezes, à adição ao protocolo terapêutico de novos fármacos na tentativa de tratar os novos sintomas, atribuíveis à deterioração da condição do doente por evolução da doença e não por falha na terapêutica, secundária à associação de fármacos potencialmente interactivos.

O presente trabalho tem como principal objectivo a análise retrospectiva pormenorizada de casos clínicos de canídeos e felídeos alvo de hospitalização, em regime intensivo ou não, com pesquisa de potenciais interacções farmacológicas advindas dos protocolos terapêuticos instituídos durante a respectiva estadia hospitalar, na tentativa de salientar a importância prática desta temática e despertar a consciencialização de todos os clínicos desta área para a dimensão do problema e a relevância da qualidade *versus* quantidade da terapêutica.

2. Metodologia aplicada e material utilizado

2.1. Recolha de informação durante o período de hospitalização e método de análise

No presente trabalho efectuou-se um estudo observacional de 25 casos clínicos de canídeos e felídeos alvo de hospitalização no HVR, no período de Dezembro de 2009 a Fevereiro de 2010. Foram seleccionados os pacientes cujo período de internamento foi seguido pela autora, de forma contínua ou interrupta, pelo que a selecção com base na espécie, sexo, idade, raça e motivo de hospitalização foi aleatória.

Foi analisada de forma sistemática e sequencial toda a terapêutica instituída durante o referido período, utilizando como fonte de informação as fichas de internamento de cada paciente. Nestas, os pacientes são caracterizados quanto à espécie, raça, sexo, idade e peso, sendo identificada a principal causa de internamento. São identificados todos os fármacos administrados, respectivas doses, vias, frequência e duração da administração, bem como, o tipo de fluidoterapia, quando instituída (fluido, taxa de administração e suplementação, quando efectuada). Das fichas de internamento constam, igualmente, alguns parâmetros indispensáveis para avaliação do estado geral dos pacientes como, temperatura corporal, frequência de eliminação fecal e urinária e respectivas características, presença ou ausência de vómito e ingestão ou não de alimento e água. Os principais parâmetros avaliados no exame físico como frequência cardíaca, frequência respiratória, tempo de repleção capilar, pulso e coloração das mucosas, frequentemente avaliados pelos clínicos, não constam da informação presente nas fichas, salvo raras excepções.

Nas fichas de internamento são, também, indicados todos os exames complementares de diagnóstico realizados durante o período de hospitalização como, hemograma, análises bioquímicas sanguíneas, análise bioquímicas de urina, radiografia, ecografia, electrocardiograma (ECG), ecocardiografia, tomografia axial computadorizada (TAC), ressonância magnética (RM), entre outros, bem como, as principais alterações detectadas, quando significativas.

Todas as cirurgias efectuadas e respectivos fármacos utilizados na pré-medicação e no período intra-operatório são, igualmente, identificados, salvo raras excepções.

A informação relativa ao historial clínico dos pacientes, excepto a relacionada directamente com o motivo de hospitalização, foi excluída da análise por impossibilidade de sistematização da mesma uma vez que, nalguns casos, foi veiculada maioritariamente pelos proprietários, o que poderia limitar a acuidade da informação.

Com base nas principais interacções farmacológicas descritas em Medicina Veterinária no

âmbito dos animais de companhia, especificamente, canídeos e felídeos, procedeu-se à análise dos casos elegidos com pesquisa da ocorrência ou não das referidas interações, através do cruzamento da informação obtida na revisão bibliográfica realizada pela autora, com a informação disponível para cada caso clínico.

Procurou-se averiguar, na presença de uma interação farmacológica, se esta resultou em alterações do estado clínico do paciente detectáveis ao exame físico ou através de exames complementares de diagnóstico ou se, pelo contrário, não resultou em quaisquer reacções adversas. Na eminência de uma reacção adversa, justificada por uma interação farmacológica procurou-se, igualmente, avaliar se esta foi atribuída à referida interação, com alteração da terapêutica imposta ou, se foi atribuída a outras causas, com continuação do protocolo terapêutico instituído.

Para fins de consulta e apresentação, a informação contida nas fichas de internamento dos pacientes abordados foi processada e tratada em formato de tabela. Todos os medicamentos são identificados pela sua substância activa.

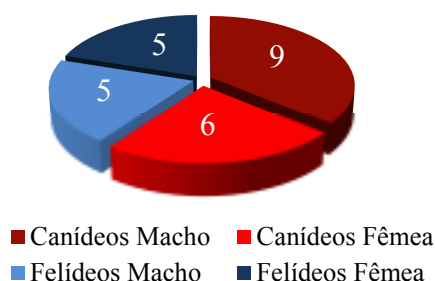
2.2. Caracterização da população incluída no estudo

2.2.1. Distribuição dos animais pela espécie, género, idade e raça

Neste estudo foram incluídos 25 animais que se apresentaram à consulta no HVR e que foram submetidos a hospitalização. O grupo incluiu 15 canídeos e 10 felídeos.

Como representado no gráfico 1, dos canídeos, 6 eram fêmeas e 9 eram machos. Dos felídeos, 5 eram fêmeas e 5 eram machos.

Gráfico 1: Distribuição absoluta dos canídeos e felídeos da amostra por género



Nos gráficos 2 e 3, encontra-se representada a distribuição absoluta dos machos e fêmeas pelo estado de fertilidade, nos canídeos e felídeos da amostra, respectivamente.

Gráfico 2: Distribuição absoluta dos machos e fêmeas, pelo estado de fertilidade, nos canídeos da amostra

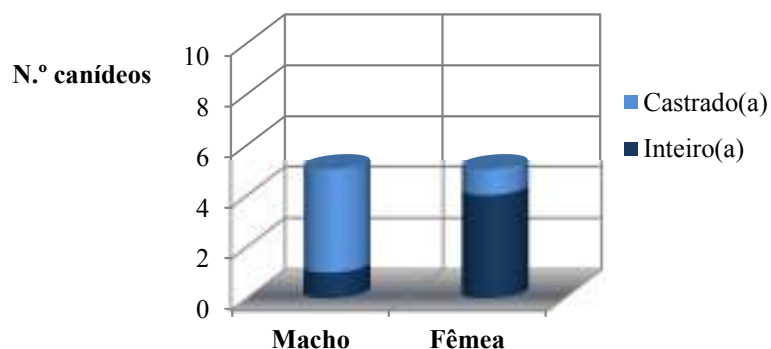
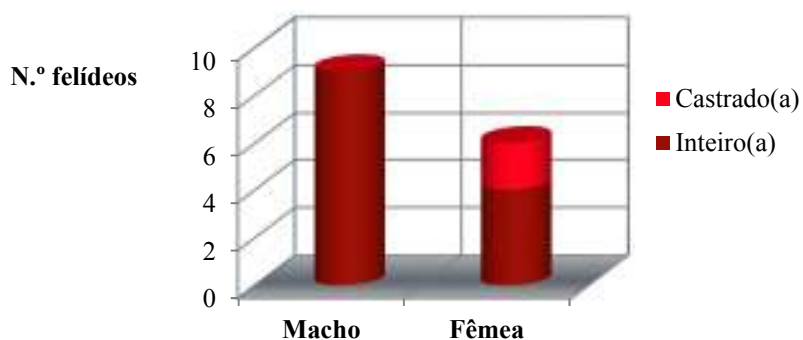
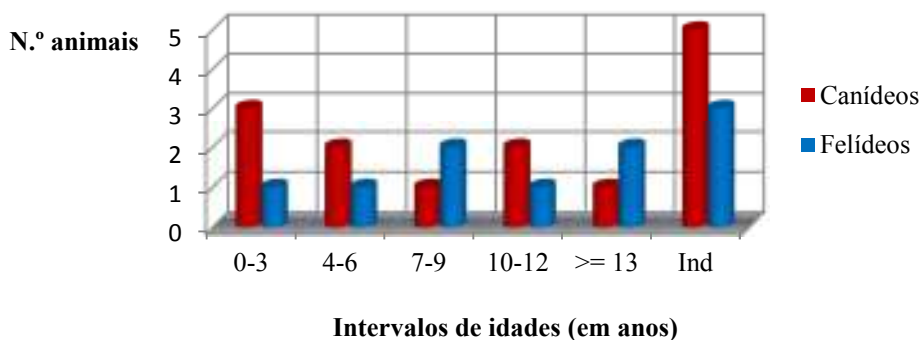


Gráfico 3: Distribuição absoluta dos machos e fêmeas, pelo estado de fertilidade, nos felídeos da amostra



Os canídeos da amostra apresentavam idades compreendidas entre 1,5 anos e 15 anos (com 5 animais sem idade determinada, mas com características de adultos) e os felídeos, idades compreendidas entre 5 meses e 17 anos (com 3 animais sem idade determinada, mas com características de adultos), com uma distribuição absoluta dos animais por idades como representado no gráfico 4.

Gráfico 4: Distribuição absoluta dos canídeos e felídeos da amostra por idade



À excepção do felídeo com 5 meses de idade e dos animais sem idade determinada, a grande maioria dos outros incluem-se na faixa etária dos animais considerados geriátricos.

Os canídeos do grupo foram identificados como pertencentes a diversificadas raças e dos 10 felídeos, 7 foram identificados como raça indeterminada.

O anexo 2 resume as características gerais da população em estudo, incluindo, para além das já referidas, o peso.

3. Resultados

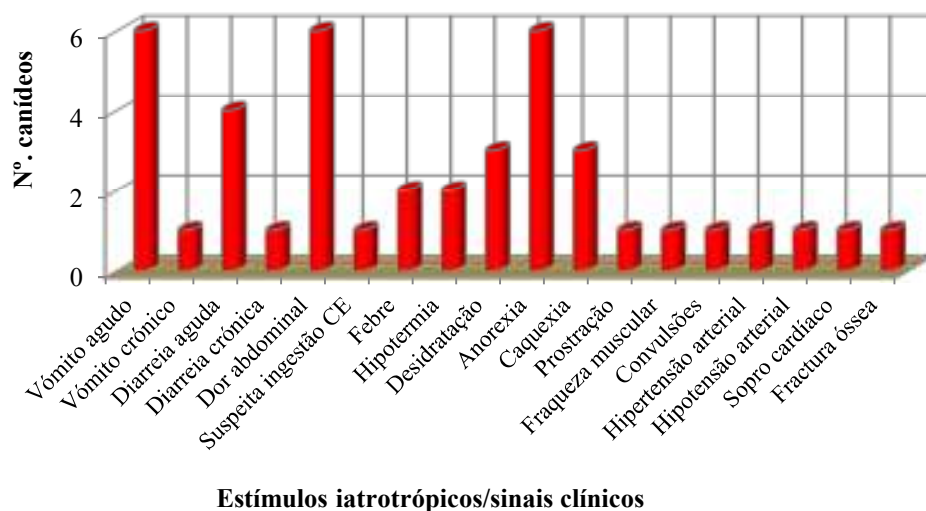
3.1. Principais motivos de hospitalização

3.1.1. Motivos de internamento com base no estímulo iatrotópico e nos dados do exame físico

Os animais incluídos no estudo apresentaram-se à consulta no HVR pelos mais variados estímulos iatrotópicos e com sintomatologia diversificada.

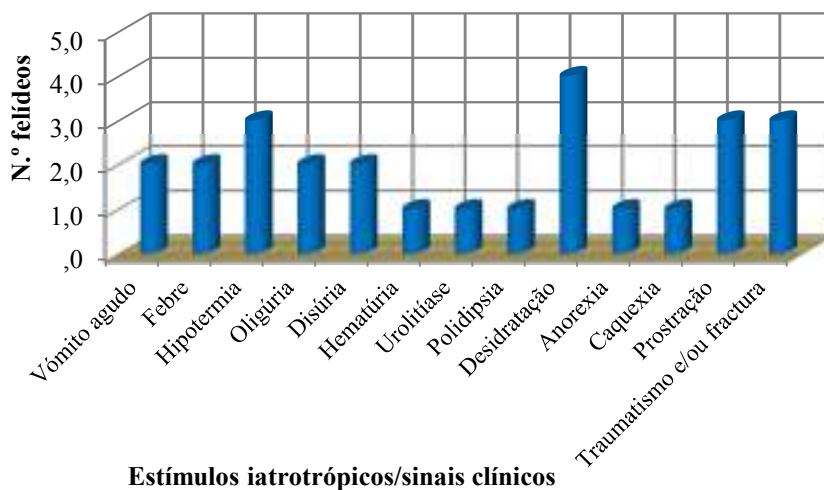
De entre os estímulos iatrotópicos e os sinais clínicos detectados ao exame físico realizado no acto da consulta, que estiveram na origem do internamento dos pacientes, destacam-se, para os canídeos e felídeos, os presentes nos gráficos 5 e 6, respectivamente.

Gráfico 5: Canídeos - principais estímulos iatrotópicos/sinais clínicos como motivo de internamento (frequência absoluta)



Legenda do gráfico: CE = corpo estranho

Gráfico 6: Felídeos - principais estímulos iatrotópicos/sinais clínicos como motivo de internamento (frequência absoluta)



Nos canídeos, a sintomatologia GI primária ou secundária, como vômito ($n = 7$), diarreia ($n = 5$), dor abdominal ($n = 6$) e anorexia ($n = 6$), foi o motivo de internamento mais comum. Nalguns casos, não descritos no gráfico, a existência de uma doença previamente diagnosticada, em associação com os sinais apresentados à consulta, justificou o internamento imediato dos pacientes, tal como observado em 7 dos canídeos, os quais tinham sido já diagnosticados para hipoadrenocorticism, insuficiência cardíaca congestiva (ICC) e insuficiência renal crónica (IRC), feocromocitoma, leishmaniose, linfangiectasia e enterite linfoplasmocítica, piómetra, respectivamente.

Nos felídeos, destaca-se a presença de sinais/sintomas compatíveis com afecção do tracto urinário inferior e/ou superior, como disúria ($n = 2$), hematuria ($n = 1$), oligúria ($n = 2$) e desidratação ($n = 4$), entre outros sinais. Em 3 dos felídeos, o motivo de internamento residiu em episódios de traumatismo, dos quais 2 resultaram em fractura óssea com diferentes localizações, confirmada por exame radiográfico. O terceiro caso de traumatismo não padeceu de avaliação radiográfica nem confirmação da gravidade das lesões por impossibilidade financeira dos proprietários do paciente, que determinaram a eutanásia do mesmo no segundo dia de internamento.

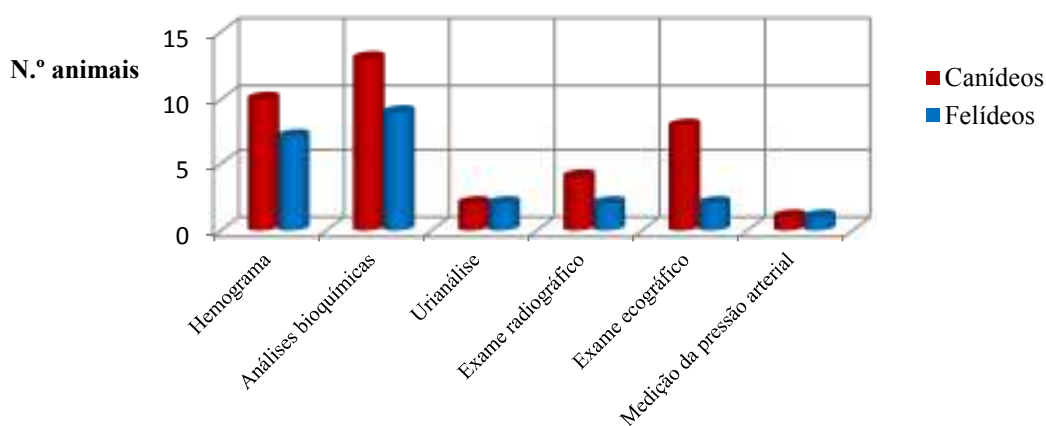
No anexo 3, encontra-se a totalidade da informação obtida no âmbito da consulta que antecedeu o internamento de cada paciente, no que respeita aos principais estímulos iatrotópicos e sinais clínicos detectados pelo clínico e reportados na respectiva ficha clínica.

3.1.2. Motivos de internamento com base nos exames complementares de diagnóstico realizados

Para além dos achados ao exame clínico, pesaram igualmente na decisão de internar os pacientes outros factores como os achados obtidos nos diversos exames complementares de diagnóstico realizados. Embora alguns destes tenham sido realizados já no período do primeiro dia de internamento, a sua realização proporcionou a confirmação da condição clínica dos pacientes e/ou informação adicional para a elaboração de uma lista de diagnósticos diferenciais e obtenção de um diagnóstico definitivo pelo que foram considerados igualmente relevantes na decisão de manter os pacientes em regime hospitalar.

No gráfico 7 encontram-se os diversos exames complementares de diagnóstico realizados nos canídeos e felídeos do grupo. Estes exames foram agrupados e analisados como exames realizados no primeiro (1º) dia de internamento, independentemente de o terem sido durante a consulta.

Gráfico 7: Canídeos/Felídeos - exames complementares de diagnóstico realizados no 1º dia de internamento (frequência absoluta)



Em todos os casos o hemograma incluiu a determinação dos principais parâmetros celulares sanguíneos divididos em leucograma e eritrograma, analisados no sistema IDEXX VetLab®, no qual se analisou, também, o trombocitograma.

Na tabela 4 encontram-se enumeradas as principais alterações encontradas no total das análises hematológicas realizadas no 1º dia de internamento nos canídeos e felídeos do grupo.

Tabela 4: Canídeos/Felídeos - principais alterações hematológicas (1º dia de internamento)

Alterações Hemograma	Nº canídeos	Nº felídeos
Anemia	4	2
Hct ↑	1	1
Hb ↑	1	-
VCM ↑	1	-
CHCM ↑	1	-
Leucocitose	5	-
Neutrofilia	6	1
Linfocitose	1	-
Monocitose	5	-
Leucopénia	1	2
Neutropénia	-	2
Monocitopénia	1	-
Trombocitopénia	7	2
Sem alterações	1	2

Legenda: Hct = hematócrito; Hb = hemoglobina; VCM = volume corpuscular médio; CHCM = concentração de hemoglobina corpuscular média; ↑ = aumentado(a); - = sem registo

Dos quatro canídeos nos quais se detectou anemia, todos apresentavam diminuição do valor absoluto de eritrócitos. Em dois deles, este foi o único valor que se encontrava diminuído. Os outros dois apresentavam simultaneamente diminuição do Hct e destes, apenas um apresentava, simultaneamente, diminuição da Hb. Apenas um dos canídeos apresentava alteração dos índices eritrocitários, nomeadamente, aumento do VCM e da CHCM, indicando tratar-se de uma anemia macrocítica hipercrómica. A hipercromia raramente se observa excepto nos casos de hemoglobinémia por hemólise, corpos de inclusão que aumentem a refractividade ou ainda na lipémia. Dos dois felídeos nos quais se detectou anemia, ambos apresentavam diminuição do valor absoluto de eritrócitos mas apenas um apresentava simultaneamente diminuição do Hct.

Em nenhum dos casos de anemia foi determinado o valor do índice de reticulócitos como indicador absoluto de regeneração.

Em todos os canídeos com leucocitose observou-se neutrofilia. Em quatro dos animais esta acompanhou-se também de monocitose e apenas num ocorreu em simultâneo linfocitose. A ocorrência isolada de monocitose apenas se verificou num caso. No canídeo com leucopénia esta traduziu-se apenas por monocitopénia. Nos felídeos apenas se reportou um caso de neutrofilia isolada e observou-se leucopénia por neutropénia em dois animais.

Em nenhum dos casos de trombocitopénia esta foi confirmada por esfregaço sanguíneo.

A análise dos principais parâmetros bioquímicos sanguíneos foi realizada com recurso a diferentes sistemas analíticos, nomeadamente, à utilização dos sistemas IDEXX VetLab® e I-

STAT®. Relativamente ao primeiro equipamento foram realizados diferentes tipos de análises, com determinação de vários parâmetros bioquímicos em simultâneo e/ou parâmetros isolados e relativamente ao segundo, a determinação de tais parâmetros foi efectuada com recurso ao cartucho EC8⁺ que inclui as seguintes determinações: Na⁺, K⁺, Cl⁻, pH, pressão parcial de CO₂ (PCO₂), ureia (BUN), glucose (Glu), Hct, CO₂ total (TCO₂), HCO₃⁻, bases em excesso (BEx), lacuna de aniões (AnGap) e Hb via Hct. Em quatro casos, nomeadamente, no caso de um felídeo e de três canídeos do grupo, foram realizadas, no primeiro dia, análises bioquímicas com recurso aos dois sistemas, recorrendo à utilização de diferentes painéis analíticos. No entanto, para efeitos de interpretação da informação obtida, estas análises foram agrupadas como análises bioquímicas gerais, independentemente, do número e tipo de análises efectuados, tendo sempre presente os diferentes intervalos de valores normais proporcionados por cada tipo. Na tabela 5 encontram-se enumeradas as principais alterações encontradas no total das análises bioquímicas realizadas no 1º dia de internamento nos canídeos e felídeos do grupo.

Tabela 5: Canídeos/Felídeos - principais alterações bioquímicas (1º dia de internamento)

Alterações bioquímicas	Nº de canídeos	Nº de felídeos
Hiponatrémia	6	1
Hipoclorémia	3	-
Hipocalémia	1	-
Hipercalémia	-	2
Hiperfosfatémia	1	1
Urémia	1	3
Azotémia	5	3
Hiperglicémia	4	1
ALT ↑	5	1
FAS ↑	5	-
Hiperproteinémia	1	1
Hipoproteinémia	1	-
Hipoalbuminémia	1	-
Hiperbilirrubinémia	1	-
Acidose metabólica	1	2
Alcalose metabólica	1	-
Acidose respiratória	1	-
Alcalose respiratória	2	2
Hct ↑	2	-
Hb ↑	1	-
Hb ↓	1	-
Sem alterações	2	2

Legenda: Hct = hematócrito; Hb = hemoglobina; ALT = alanina aminotransferase; FAS = fosfatase alcalina; ↑ = aumentado(a); - = sem registo

Dos seis canídeos com alterações no ionograma, a mais comum foi a hiponatrémia. Três animais apresentavam, simultaneamente, hipoclorémia e um apresentava, igualmente, hipocalémia. Dos casos em que se verificou azotémia, apenas três apresentavam alterações no ionograma.

Dos felídeos apenas dois apresentavam alterações de ionograma, um dos quais apresentava em simultâneo hiponatrémia e hipercalémia e, também, azotémia.

O canídeo com acidose metabólica apresentava, simultaneamente, alcalose respiratória, com um valor de pH acima do normal. Dos felídeos com acidose metabólica, ambos apresentavam alcalose respiratória mas, neste caso, ambos com diminuição do valor normal de pH.

As análises de urina efectuadas dividiram-se em análise de urina tipos I, com recurso a tiras urinárias e II, com recurso ao sistema IDEXX VetLab®. Em ambos os canídeos nos quais este exame foi realizado, recorreu-se à análise de urina tipo II, com colheita de urina por cistocentese. No caso dos felídeos, num realizou-se análise de urina do tipo I, com colheita de urina por expressão e noutro o tipo II, com colheita de urina por cateterização. Nos canídeos as principais alterações encontradas consistiram em alterações do aspecto/coloração normais, proteinúria, hematúria e bacteriúria. Nos felídeos, consistiram em alterações do aspecto/coloração normais, proteinúria, hematúria, cetonúria, entre outras.

Os exames radiográficos realizados dividiram-se em radiografia craniana (realizada num canídeo), torácica (realizada num felídeo), abdominal (realizada num felídeo e em três canídeos) e dos membros anteriores (realizada num felídeo). Dos diversos casos, apenas em dois o exame radiográfico permitiu a obtenção/confirmação de um diagnóstico, nomeadamente de fractura, de diferente localização, no caso de um canídeo e um felídeo do grupo.

O exame ecográfico abrangeu apenas a vertente da ecografia abdominal e as alterações detectadas abrangeram os mais variados departamentos orgânicos, encontrando-se estas alterações referidas detalhadamente para cada caso, no anexo 4.

A pressão arterial foi medida de forma não invasiva e indirecta através de um esfigmomanómetro digital e consistiu na determinação dos parâmetros pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD) e pressão arterial média (PAM). Foram realizadas, no mínimo, três determinações considerando-se a média dos valores obtidos. Nalguns casos apenas os valores da PAS e PAD foram registados nas fichas de internamento. Em todos os casos nos quais este exame foi requerido, detectou-se aumento dos parâmetros referidos, com a presença de um quadro de hipertensão arterial.

3.1.3. Motivo de internamento segundo a área clínica

Com base nos estímulos iatrotrópicos, dados do exame físico e os resultados obtidos nos diversos exames complementares de diagnóstico realizados, o motivo de internamento dos canídeos e felídeos do grupo distribui-se pelas mais diversas áreas clínicas como representado nos gráficos 8 e 9, respectivamente. Nos casos mais complexos, observou-se a presença de sintomatologia/alterações indicativas do envolvimento de múltiplos departamentos orgânicos levando à inserção desses casos, em mais do que uma categoria.

Gráfico 8: Canídeos - Motivo de internamento segundo a área clínica (frequência absoluta)

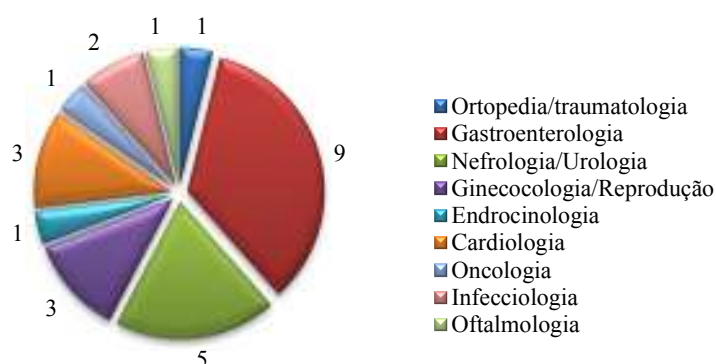
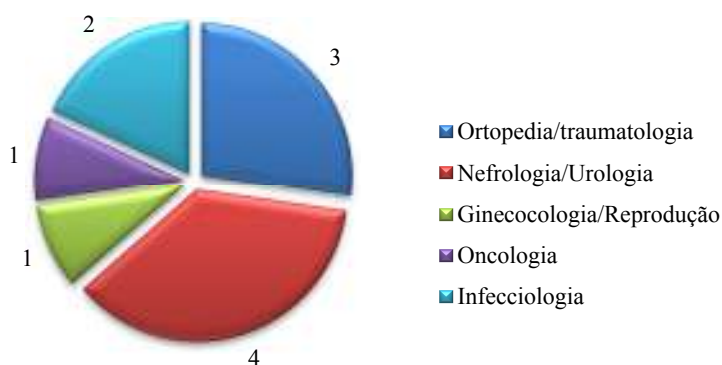


Gráfico 9: Felídeos - Motivo de internamento segundo a área clínica (frequência absoluta)



3.2. Protocolos terapêuticos instituídos durante o período de hospitalização

De acordo com os principais sinais clínicos e alterações aos exames complementares, apresentados por cada paciente incluído no estudo, foram instituídos diferentes protocolos terapêuticos, com recurso às mais diversificadas classes terapêuticas de fármacos.

Em todos os animais instituiu-se fluidoterapia por via intravenosa, exclusivamente, como

parte do protocolo terapêutico, com recurso a três fluidos diferentes, tal como enumerado na tabela 6.

Tabela 6: Tipos de fluidoterapia instituídos nos canídeos e felídeos durante o período de hospitalização (frequência absoluta)

Fluidoterapia	N.º canídeos	N.º felídeos
NaCl 0,9%	4	7
LR	11	3
Esterofundina	1	0
Suplementação	N.º canídeos	N.º felídeos
KCl	2	0
Duphalyte®	1	1
Glucose 30%	1	0

Legenda: NaCl 0,9% = cloreto de sódio a 0,9%; LR = lactato de ringer;
KCl = cloreto de potássio

De todos os casos, apenas num houve alteração do tipo de fluido durante o período de hospitalização com substituição do NaCl a 0,9% pelo LR nos últimos dias de internamento. Apenas se procedeu à suplementação dos fluidos em três canídeos (num dos quais a suplementação consistiu na administração de KCl e glucose a 30% em simultâneo) e num felídeo. As taxas e fluxos de administração variaram de acordo com o estado de hidratação do paciente.

Nas tabelas 7 e 8 encontram-se enumeradas todas as substâncias activas administradas por via sistémica, durante o período de hospitalização, aos canídeos e felídeos da amostra, respectivamente. Apenas num canídeo se procedeu à administração de substâncias activas por via tópica, nomeadamente, a via ocular.

Tabela 7: Substâncias activas administradas em canídeos, por via sistémica, durante o período de hospitalização (frequência absoluta)

Classe terapêutica	Substância activa	N.º canídeos
Antieméticos	Metoclopramida	9
	Maropitant	3
Antiácidos gástricos	Ranitidina	11
	Omeprazol	4
Coleréticos	Ácido ursodesoxicólico	1

Tabela 7 (continuação): Substâncias activas administradas em canídeos, por via sistémica, durante o período de hospitalização (frequência absoluta)

Classe terapêutica	Substância activa	N.º canídeos
Antimicrobianos	Amoxicilina e ácido clavulânico	3
	Ampicilina	5
	Ceftriaxona	4
	Enrofloxacina	3
	Metronidazol	11
	Apolurinol	1
AINE's	Meloxicam	3
	Ácido tolfenâmico	3
Glucocorticóides	Prednisolona	4
	Hidrocortisona	1
	Flucrocortisona	1
Analgésicos	Tramadol	13
	Morfina	1
Antiepilépticos/anticonvulsivos	Diazepam	1
	Fenobarbital	1
IECA's	Benazepril	2
Anti-hipertensores	Atenolol	1
	Amlodipina	1

Legenda: AINE's = anti-inflamatórios não esteróides; IECA's = inibidores da enzima de conversão da angiotensina

Tabela 8: Substâncias activas administradas em felídeos, por via sistémica, durante o período de hospitalização (frequência absoluta)

Classe terapêutica	Substância activa	N.º felídeos
Antieméticos	Metoclopramida	5
Antiácidos gástricos	Ranitidina	6
	Famotidina	1
Antimicrobianos	Amoxicilina e ácido clavulânico	5
	Cefalexina	1
	Ceftriaxona	4
	Enrofloxacina	2
	Metronidazol	4
AINE's	Ácido tolfenâmico	7
Glucocorticóides	Prednisolona	1
Analgésicos	Tramadol	4
IECA's	Benazepril	1
Anti-hipertensores	Amlodipina	1
Diuréticos	Manitol	1
Probióticos	Carbonato de lantânio	1
Imunomoduladores	Infermun®	2

Legenda: IECA's = inibidores da enzima de conversão da angiotensina

Nos gráficos 10 e 11 encontram-se as classes terapêuticas alvo do maior número de prescrições, por substância activa administrada, nos canídeos e felídeos, respectivamente.

Gráfico 10: Canídeos – classes terapêuticas com maior número de prescrições (frequência absoluta)

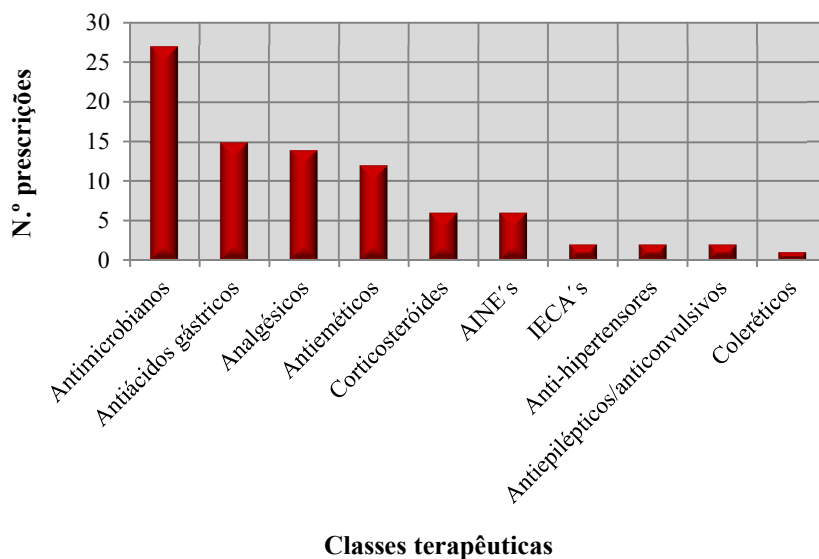
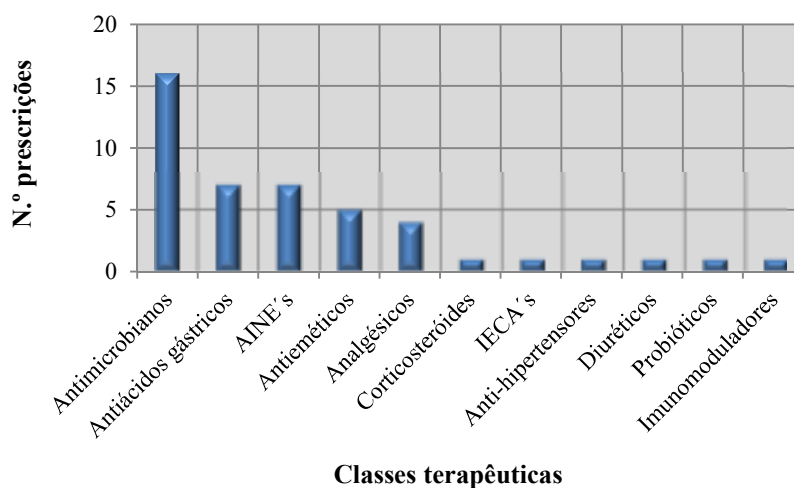


Gráfico 11: Felídeos - classes terapêuticas com maior número de prescrições (frequência absoluta)



Dentro da classe dos antimicrobianos todas as substâncias activas correspondem a antibióticos, com excepção do alopurinol, com acção anti-leishmania. Na tabela 9 encontra-se o número de antibióticos prescritos, concomitantemente ou não, por animal alvo de antibioterapia.

Tabela 9: N.º de antibióticos prescrito por animal alvo de antibioterapia

N.º antibióticos	N.º canídeos	N.º felídeos
1	2	2
2	10	4
3	1	2
> 3	0	0

Legenda: > = maior

Dos animais do grupo, cinco (quatro canídeos e um felídeo) foram submetidos a intervenção cirúrgica durante o período de hospitalização, um dos quais (o felídeo em questão), por duas vezes e nestes, a pré-medicação constou das substâncias activas enumeradas na tabela 10, na qual se encontra ausente a informação relativa a um dos pacientes por não constar na ficha de internamento.

Tabela 10: Substâncias activas utilizadas como pré-medicação cirúrgica

Classe farmacológica	Substância activa	Nº canídeos	Nº felídeos
Benzodiazepinas	Diazepam	2	-
	Midazolam	-	1
Fenotiazínicos	Acepromazina	1	-
Agonistas adrenérgicos	Xilazina	1	-
Analgésicos opióides	Morfina	2	-
	Butorfanol	1	1
	Fentanil	1	1

Legenda: - = sem registo

Na tabela 11 encontra-se o número total de substâncias activas administradas por animal, independentemente da via (sistémica *versus* tópica), durante os respectivos períodos de hospitalização.

Tabela 11: Número total de substâncias activas administradas, por animal, durante o período de hospitalização

Nº substâncias activas	Nº canídeos	Nº felídeos
1 - 3	-	1
4 - 6	9	8
>6	6	1

Legenda: > = maior; - sem registo

Dos protocolos terapêuticos analisados, destacam-se, de acordo com a literatura consultada, as seguintes substâncias activas pelo seu potencial interactivo: enrofloxacina, metoclopramida,

omeprazol e o fenobarbital. Na tabela 12 encontram-se enumeradas todas as substâncias activas que foram administradas em concomitância com as anteriormente referidas, no total de todos os casos analisados. Por concomitância quer-se aqui referir, dentro do mesmo protocolo terapêutico, independentemente, de em termos temporais a administração de algumas ter sido terminada ou iniciada à parte de outras.

Tabela 12: Substâncias activas potencialmente interactivas e respectivas associações no total dos casos clínicos analisados

Substâncias activas com potencial interactivo	Substâncias activas administradas em concomitância
Enrofloxacina	Amoxicilina mais ácido clavulânico Ceftriaxona Metronidazol Ácido tolfenâmico Meloxicam Tramadol Ranitidina Metoclopramida Maropitant Benazepril Diazepam Fenobarbital
Metoclopramida	Amoxicilina mais ácido clavulânico Ampicilina Ceftriaxona Metronidazol Enrofloxacina Alopurinol Ácido tolfenâmico Prednisolona Tramadol Ranitidina Famotidina Maropitant Benazepril Atenolol Amlodipina Infermun®

Tabela 12 (continuação): Substâncias activas potencialmente interactivas e respectivas associações no total dos casos clínicos analisados

Substâncias activas com potencial interactivo	Substâncias activas administradas em concomitância
Omeprazol	Amoxicilina mais ácido clavulânico Ampicilina Ceftriaxona Metronidazol Meloxicam Prednisolona Hidrocortisona Fludrocortisona Tramadol Ranitidina Metoclopramida Maropitant Ácido ursodesoxicólico
Fenobarbital	Enrofloxacina Meloxicam Tramadol Benazepril Diazepam

Das associações de substâncias activas realizadas nos diversos protocolos terapêuticos analisados, não resultou suspeita de interacções farmacológicas clinicamente relevantes.

No anexo 5 encontra-se a totalidade da informação relativa aos protocolos terapêuticos analisados, no que respeita às associações específicas de substâncias activas realizadas em cada caso, respectivas doses, vias de administração e duração/momento da terapêutica.

4. Discussão

Os casos clínicos abordados no presente trabalho foram consideravelmente diversificados tanto no que respeita à sintomatologia apresentada pelos pacientes no momento de hospitalização, como nas alterações apresentadas nos diversos exames complementares de diagnóstico realizados. A sintomatologia apresentada distribui-se pelas mais diversas áreas clínicas destacando-se, contudo, as áreas da gastroenterologia e nefrologia/urologia nos canídeos (gráfico 8) e nefrologia/urologia nos felídeos (gráfico 9), como os principais diagnósticos no estabelecimento dos protocolos terapêuticos.

A complexidade dos protocolos terapêuticos instituídos é, na grande maioria dos casos, directamente proporcional à complexidade/gravidade dos quadros clínicos apresentados o que justifica a administração, por vezes concomitante, de um grande número de substâncias activas, seja pela mesma via de administração ou não (Larson, 2002).

Das classes terapêuticas prescritas nos animais da amostra destacam-se, quer nos canídeos, quer nos felídeos, os antimicrobianos (gráficos 10 e 11, respectivamente), seguidos dos antiácidos gástricos, analgésicos e antieméticos nos canídeos e os antiácidos gástricos e os AINE's nos felídeos.

Dos animais alvo de antibioterapia, 14 foram medicados com duas substâncias activas diferentes durante o período de hospitalização e apenas 3 foram medicados com três substâncias diferentes, sendo esta a quantidade máxima registada (tabela 11).

Como a antibioterapia em Medicina Veterinária tem vindo a desenvolver-se bastante com o decorrer do tempo e o evoluir da ciência, as substâncias activas que existem actualmente são cada vez mais potentes e de amplo espectro de acção. Mas a par do desenvolvimento de novas moléculas nesta área, verifica-se o aparecimento de estirpes bacterianas, quer patogénicas quer da flora comensal, com uma maior capacidade de resistência, capazes de inviabilizar a eficácia das gerações mais recentes de antibióticos, criando assim, profundas limitações no âmbito da terapêutica veterinária. O aparecimento de microorganismos multirresistentes está muito relacionado com a utilização indiscriminada destes fármacos, que em muito se deve à falta de conhecimento técnico por parte dos clínicos em relação aos mecanismos de acção, espectro de acção, reacções adversas, efeitos tóxicos e interacções farmacológicas das substâncias activas que utilizam, bem como, à falta de arsenal terapêutico veterinário específico e recursos laboratoriais pelo que é necessária a reavaliação da conduta clínica aplicada no dia-a-dia (Pina, 2000). No entanto, é comum na prática clínica a associação de antimicrobianos que visa, principalmente: a obtenção de uma actividade sinérgica ou, pelo

menos, aditiva; a terapêutica eficaz de infecções polimicrobianas ou super-infecções; a redução do aparecimento de resistências emergentes e a diminuição da toxicidade dos antimicrobianos através da redução da sua dose (Walker & Guiguère, 2006).

Nos canídeos do grupo, o antibiótico mais utilizado foi o metronidazol. É primariamente metabolizado no fígado, por oxidação e conjugação e eliminado através da urina e fezes; devido à sua metabolização hepática, em pacientes com doença hepática deve proceder-se a uma redução da dose (Plumb, 2005).

Entre possíveis reacções adversas associadas à terapêutica com este fármaco, mais incidentes no cão, incluem-se: anorexia, letargia, fraqueza muscular, náuseas, vómitos, diarreia, neutropenia, hematúria e alterações nervosas. Estas alterações nervosas, que podem culminar num quadro de neurotoxicidade, estão muito associadas a doses terapêuticas elevadas em relação às doses postuladas mas também a terapêuticas prolongadas em infecções crónicas; os principais sinais de neurotoxicidade são: anorexia e/ou vómitos, depressão, midríase, nistagmus (vertical), ataxia, *head tilt*, déficits propioceptivos, rigidez, tremores, convulsões e bradicardia (Plumb, 2005; Dowling, 2006b).

No Homem, quando administrado em simultâneo com anticoagulantes cumarínicos, como a varfarina, pode provocar um aumento da sua concentração sanguínea, aumento do tempo de protrombina e do risco de hemorragia, pois é um potencial inibidor das isoenzimas CYP3A4 e CYP2C9 do CYP450, responsáveis pela metabolização destes agentes anticoagulantes (Plumb, 2005; Gómez-Moreno, Guardia, Cutando & Calvo-Guirado, 2009).

O fenobarbital promove um aumento do metabolismo hepático do metronidazol dada a sua capacidade de indução enzimática hepática (Larson, 2002). A cimetidina, sendo um potencial inibidor das enzimas microssomais hepáticas metabolizadoras, à semelhança de outros fármacos, promove uma diminuição do mesmo podendo originar um aumento da sua concentração sérica. Outros antagonistas dos receptores H₂ como a ranitidina, a famotidina e a nizatidina, por não apresentarem a referida actividade inibidora, não interferem no metabolismo do metronidazol (Infarmed, 2010; Plumb, 2005).

Nos felídeos do grupo o antibiótico mais utilizado foi a associação amoxicilina e ácido clavulânico, uma associação segura e firmemente implementada na terapia hospitalar e ambulatoria de um grande leque de infecções, isoladamente ou em associação com outras substâncias activas (Saudagar, Survase & Singhal, 2008).

Dos restantes antibióticos utilizados nos animais do grupo destaca-se a enrofloxacin pela potencialidade de interacções farmacológicas e/ou reacções adversas descritas. A sua utilização está contra-indicada em gatos com idade inferior a oito semanas, em cães de raças pequenas e médias com idade inferior a um ano e em de raças grandes com idade inferior a

dezoito meses dado poder provocar artropatia por erosão da cartilagem, principalmente se se tratarem de raças de crescimento rápido. Por esta mesma razão, o uso de enrofloxacin em fêmeas gestantes é, também, desaconselhado (Plumb, 2005; Ramsey, 2008).

Exceptuando-se as reacções adversas ao nível das cartilagens, a enrofloxacin é relativamente segura sendo raro a ocorrência de outras reacções adversas. Destas, destacam-se no cão a ocorrência do aumento das enzimas hepáticas, ataxia, tremores, convulsões, cristalúria e no gato a ocorrência de toxicidade ocular caracterizada por degenerescência aguda e irreversível da retina, midríase e cegueira (Plumb, 2005).

Diversos estudos realizados têm comprovado que as fluoroquinolonas são directamente retinotóxicas e que a enrofloxacin, especificamente, é tóxica para a retina felina na dose de 50mg/kg/dia, embora esta toxicidade seja também “paciente dependente”. Embora os mecanismos causadores desta alteração não estejam completamente esclarecidos, foram já identificados, para além da dose, outros factores de risco tais como: administração IV rápida do antibiótico, longos períodos de tratamento, idade do paciente (gatos mais velhos mais propensos para doses menores), exposição excessiva à luz solar durante o tratamento, interacções farmacológicas e aumento da concentração plasmática do fármaco por diminuição da sua metabolização e/ou eliminação (Cavalcante, Gouvêa & Marques, 2009).

De acordo com Plumb (2005), a intoxicação por enrofloxacin é passível de ocorrer quando administrada uma dose dez vezes superior à postulada, manifestando-se apenas por sintomatologia GI, sendo necessária uma dose vinte e cinco vezes superior, para a ocorrência de um quadro mais severo com a possível morte do paciente (Plumb, 2005). No entanto, num caso descrito por Barcellos et al. (2006) verificou-se a ocorrência de intoxicação por enrofloxacin numa cadela de raça Pinscher Miniatura na dose dez vezes a recomendada e por apenas dois dias, que desencadeou lesões severes no tracto GI, rins, fígado, pâncreas e SNC, choque hipovolémico, tendo culminado na morte do animal (Barcellos et al., 2006).

Devido à vasta aplicação deste antibiótico em Medicina Veterinária, o seu uso em animais de companhia é cada vez mais indiscriminado, o que pode estar na base de pressões selectivas sobre as populações bacterianas e o consequente aparecimento de multi-resistências.

As doses dos antibióticos prescritos e as vias de administração utilizadas, quer nos canídeos, quer nos felídeos do grupo, corresponderam aos parâmetros preconizados na bibliografia consultada não tendo sido registadas quaisquer interacções farmacológicas e/ou reacções adversas associadas à sua prescrição.

Os antiácidos gástricos, bem como, os antieméticos foram prescritos na grande maioria dos animais do grupo (gráficos 10 e 11) com recurso às substâncias activas indicadas nas tabelas 7 e 8. A ranitidina e a famotidina, por oposição à cimetidina, são amplamente prescritas pela

relativa segurança farmacológica e reduzido número de reacções adversas, bem como, interacções farmacológicas. Estas últimas prendem-se, essencialmente, com o aumento do pH GI promovido pela acção antagonista dos receptores H_2 , podendo provocar diminuição da absorção GI de substâncias activas cuja referida absorção dependa da acidez do meio, como é o caso do cetoconazol. O mesmo se verifica em relação ao omeprazol (inibidor da bomba de prótons). No entanto, o seu potencial de inibição e também de indução enzimática do CYP450, este último particularmente no cão, deve ser alvo de consideração aquando da prescrição desta substância activa em concomitância com outras substâncias. No caso dos 4 canídeos nos quais o omeprazol foi utilizado quer pela via oral, quer pela via IV, não foi administrada nenhuma substância activa que, pela sua metabolização hepática, fosse passível de sofrer alterações farmacocinéticas secundárias à administração do omeprazol.

Dos antieméticos, a metoclopramida foi utilizada como substância antiemética/procinética quer nos canídeos, quer nos felídeos do grupo, com uso exclusivo do maropitant nos canídeos, apesar da evidência de diversos estudos realizados até a data quanto à eficácia e segurança farmacológicas do maropitant em felídeos (Hickman et al., 2008). A metoclopramida apresenta maior potencialidade para a ocorrência de reacções adversas e eventuais interacções farmacológicas, embora nenhum destes acontecimentos tenha sido registado após análise de todos os protocolos nos quais esta substância foi incluída. Embora, pelo facto de reduzir a perfusão sanguínea renal, possa exacerbar eventuais lesões renais pré-existentes (Plumb, 2005; Ramsey 2008), esta foi utilizada em diversos casos de doença renal como antiemético de eleição, sem evidências de agravamento da referida doença, quer por análise do estado geral dos pacientes, quer por parâmetros de função renal.

Nos casos clínicos alvo de suspeita de ingestão de corpos estranhos esta substância apenas foi prescrita após resolução do problema (caso clínico n.º 8) e após descarte desta possibilidade através de laparotomia exploratória (caso clínico n.º 15).

O recurso aos AINE's é igualmente uma constante na prática clínica do dia-a-dia pelo seu potente efeito anti-inflamatório, anti-pirético e analgésico, encontrando-se o seu uso indicado em praticamente todas as formas de dor. Contudo, todos os AINE's têm a potencialidade de provocar lesões/sintomatologia GI, bem como, a capacidade de provocar lesões hepáticas e renais pelo que, a sua administração, particularmente por via oral, deve ser evitada em pacientes com doença ulcerativa GI, doença hepática e/ou renal, alterações hemodinâmicas (secundárias, por exemplo, a trauma e/ou choque) e pacientes alvo de terapia com glucocorticóides, entre outras condições clínicas (Murrel, 2008; Holden, 2009). Nos canídeos utilizaram-se os AINE's meloxicam e ácido tolfenâmico (tabela 7) e nos felídeos somente o ácido tolfenâmico (tabela 8), dentro das doses preconizadas e sempre por via parentérica. Não

se observou o uso concomitante de AINE's e outras substâncias activas com propriedades ulcerogénicas, como o caso dos glucocorticóides. No entanto, em dois casos de IRA (casos clínicos n.º 6 e 24) recorreu-se ao uso de ácido tolfenâmico, embora por curtos períodos de tempo e, aparentemente, sem agravamento do quadro de lesão renal, dado em ambos os casos ter havido uma recuperação da função renal avaliada pelos respectivos parâmetros bioquímicos.

A corticoterapia, (a glucocorticoterapia em maior extensão que a mineralocorticoterapia) encontra-se largamente difundida como parte integrante de diversos protocolos terapêuticos no âmbito da Medicina Veterinária dadas as suas propriedades (de natureza sintomática) anti-inflamatórias, anti-alérgicas e imunossupressoras, bem como, o seu papel hormonal de substituição, útil em quadros de hipoadrenocorticism, por exemplo. As suas propriedades anti-inflamatórias destacam-se pelo facto de afectarem diferentes tipos de estímulos inflamatórios, desde estímulos físicos e químicos até estímulos desencadeados por agentes patogénicos e reacções imunológicas inapropriadas, como as observadas nas doenças auto-imunes e nos quadros de hipersensibilidade. No entanto, a corticoterapia destaca-se, igualmente, pelos seus efeitos secundários e, logo, pela necessidade de protocolos terapêuticos adequados no que respeita à selecção da substância activa, respectiva dose e duração da terapêutica, nunca esquecendo a necessidade de se efectuar um “desmame” adequado da corticoterapia. Os efeitos secundários surgem, particularmente, quando as doses fisiológicas são ultrapassadas ou quando o tratamento é de longa duração e são bastante diversificados passando, de um modo geral, pela alteração da função hepática com alteração da metabolização proteica e lipídica, alteração do metabolismo da glucose com predisposição para o desenvolvimento de diabetes, alteração da utilização celular do cálcio, predisposição para o desenvolvimento de pancreatite, doença de Cushing, úlceras GI, entre outros (Day, 2008).

Em alguns dos casos analisados recorreu-se à corticoterapia (quer glucocorticoide, quer mineralocorticoide) em diversas doses visando a obtenção dos efeitos anti-inflamatório, imunossupressor e de substituição hormonal descritos. Apenas num caso (caso clínico n.º 15) a corticoterapia apresentava carácter crónico tendo continuado durante o período de hospitalização face ao diagnóstico de crise addisoniana secundária ou concomitante a suspeita de ingestão de corpo estranho e/ou indiscriminação alimentar que culminou em pancreatite, perfuração de ulceração duodenal e, por fim, peritonite e ascite, na sequência da hipoalbuminémia que se desencadeou.

A analgesia, com recurso ao tramadol e à morfina nos canídeos e somente ao tramadol nos felídeos foi utilizada em diversos casos clínicos de dor aguda e crónica, encontrando-se o uso

da morfina mais direccionado para a dor crónica do que o tramadol. Ambas as substâncias são amplamente utilizadas no manejo da dor, em regime hospitalar, e à excepção dos efeitos secundários ao nível GI, são relativamente seguras e isentas de reacções adversas graves. Relativamente a esta classe terapêutica não se observaram quaisquer reacções adversas e/ou interacções farmacológicas.

Da classe das substâncias activas com efeito anti-hipertensor, recorreu-se à administração concomitantemente de amlodipina (antagonista dos canais de cálcio) e atenolol (β -bloqueador) num canídeo com hipertensão arterial e ICC e IRC já diagnosticadas (caso clínico n.º 16) e administração de amlodipina num felídeo, igualmente com hipertensão arterial e IRC diagnosticada (caso clínico n.º 12). Em ambos os casos associou-se o IECA benazepril às substâncias activas referidas. As substâncias activas indicadas foram administradas na dose máxima preconizada na bibliografia de consulta para as espécies em questão (Plumb, 2005; Ramsey, 2008), mesmo no caso clínico n.º 16 em que se associou a amlodipina, o atenolol e o referido IECA. Contudo, a monitorização das pressões arteriais sistémicas foi efectuada ao longo do período de hospitalização para monitorização da evolução do quadro clínico, tendo ocorrido, em ambos os casos, uma resposta favorável no controlo da hipertensão arterial observada, face à terapêutica instituída, com ausência de reacções adversas e/ou interacções farmacológicas resultantes do protocolo instituído. Embora os valores de pressão arterial precisos nem sempre tenham sido registados, a indicação nas observações das fichas de internamento assim o indica.

O uso de substâncias activas com propriedades antiepilépticas/anticonvulsivas, nomeadamente o diazepam e o fenobarbital, restringiu-se a um caso clínico (caso clínico n.º 18) no qual o canídeo em questão apresentava um quadro convulsivo, de início insidioso, secundário ao feocromocitoma já diagnosticado e agravado por hipertensão arterial, doença cardíaca, bem como, alterações hepáticas, justificadas igualmente pela evolução da neoplasia. O diazepam foi administrado apenas no caso de convulsão, em regime SOS, enquanto o fenobarbital foi administrado praticamente durante todo o período de hospitalização numa dose inicial de 2 mg/Kg, predominantemente pela via IM, com controlo eficaz do quadro convulsivo apenas a partir do quinto dia de internamento. O fenobarbital, pela sua capacidade de indução do sistema enzimático hepático, é das substâncias activas com maior relevância na ocorrência de interacções farmacológicas, principalmente, as farmacocinéticas. A sua própria metabolização hepática pode ser potencializada pela auto-indução quer das enzimas do CYP450 quer das enzimas de conjugação hepáticas responsáveis por este processo. Por esta razão, qualquer regime terapêutico do qual esta substância activa faça parte deve ser cuidadosamente avaliado e monitorizado, dado o potencial interactivo do fenobarbital, para

além dos efeitos tóxicos hepáticos e hematológicos, entre outros, já bem conhecidos. O doseamento da concentração sérica do fenobarbital em protocolos de duração arrastada é essencial na avaliação do regime terapêutico e no ajuste das doses (Trepanier, 2001a). Com base na literatura revista, pode-se afirmar que do protocolo terapêutico no qual o fenobarbital foi incluído não resultou nenhuma interacção farmacológica clinicamente relevante.

Qualquer protocolo terapêutico que contenha mais do que uma substância activa apresenta potencialidade para a ocorrência de interacções farmacológicas e uma só substância activa pode acarretar inúmeras reacções adversas consoante as condições intrínsecas e extrínsecas ao paciente. De todas as condições intrínsecas ao paciente já abordadas, como a idade, sexo, raça, entre outras, a condição clínica destaca-se pela sua importância directa na selecção dos protocolos terapêuticos. A doença cardíaca, a doença hepática e a doença renal, primárias ou secundárias, em concomitância ou não, colocam-se como imperativas na selecção e análise de qualquer regime terapêutico por afectarem os principais departamentos orgânicos dos quais depende a farmacocinética de qualquer substância activa (Trepanier, 2001b).

Por análise dos protocolos terapêuticos, os casos clínicos nos quais se observou doença hepática e/ou renal coincidiram com os casos com o maior número de substâncias activas administradas, independentemente, dos respectivos parâmetros farmacocinéticos. Todas as substâncias activas foram administradas dentro dos intervalos de doses e pelas vias de administração preconizados na bibliografia consultada (Plumb, 2005; Ramsey, 2008) e em nenhum caso se verificou doseamento de concentrações séricas que, de um modo geral, não é procedimento comum na prática clínica dados os inconvenientes óbvios de custos e de dificuldade de interpretação dos resultados.

A prescrição farmacológica para ser mais racional deve objectivar a individualização terapêutica e, portanto, basear-se em parâmetros farmacocinéticos. Qualquer que seja o método de ajuste de doses, o seu objectivo primordial é conseguir a eficácia terapêutica sem toxicidade pelo que a monitorização da concentração sanguínea das substâncias activas, quando possível, é um recurso inestimável. No entanto, como tal não é facilmente acessível, a prescrição baseada no conhecimento prévio das características farmacocinéticas em simultâneo com o acompanhamento clínico cuidadoso, é a conduta mais adequada para superar essa dificuldade.

5. Conclusão

A realização do estágio curricular no Hospital Veterinário do Restelo e a consequente elaboração da presente dissertação foram francamente positivas permitindo o aprofundar de conhecimentos na área da clínica dos animais de companhia e, mais especificamente, na área da farmacologia, área de indiscutível importância em Medicina Veterinária.

No estudo retrospectivo realizado, não se observou qualquer interacção farmacológica coincidente com as interacções descritas na literatura. No entanto, não deve ser extrapolada qualquer conclusão a partir deste estudo no que respeita à realidade da incidência das interacções farmacológicas no âmbito do regime hospitalar de cão e gato, dadas as óbvias limitações do estudo no que respeita à dimensão da amostra, período de tempo no qual o estudo foi efectuado, bem como, a metodologia aplicada. Contudo, este estudo ao ser realizado no âmbito da realidade com a qual os clínicos veterinários se deparam no dia-a-dia e face às imposições financeiras com as quais são frequentemente confrontados, pode-se concluir, com convicção, que a avaliação prática de uma interacção farmacológica passa pelo conhecimento empírico das mesmas e só, excepcionalmente, pela confirmação laboratorial com doseamento de concentrações plasmáticas das substâncias activas, pelo que, na presença de uma interacção, embora com ausência de reacções adversas detectáveis, os clínicos devem assumir a possibilidade de uma falha da terapêutica e, logo, insituir protocolos alternativos que passem pela substituição do(s) fármaco(s) em causa.

Sendo indiscutível a contribuição das mais diversas doenças para a alteração da farmacocinética e farmacodinâmica dos fármacos, a análise do impacto destas na resposta à terapêutica é de extrema importância até porque, nos pacientes com múltipla insuficiência orgânica, é maior a probabilidade de instituição de terapêuticas múltiplas e, logo, maior a probabilidade de ocorrência de interacções farmacológicas.

Por último, sendo impossível conhecer todas as interacções farmacológicas, até porque algumas não se encontrarão ainda reportadas e tendo em conta que a melhor evidência da existência de interacções clinicamente relevantes provem de casos reais, é importante que os profissionais da saúde e todos aqueles que de perto lidam com esta temática, desenvolvam critérios de prescrição e se preocupem cada vez mais com o acto da prescrição farmacológica.

6. Bibliografia

- Anadón, A. & Reeve-Johnson, L. (1999). Macrolide antibiotics, drug interactions and microsomal enzymes: implications for veterinary medicine. *Research in Veterinary Science*, 66, 197-203.
- Alexopoulou, A., Dourakis, S. P., Mantzoukis, D., Pitsariotis, T., Kandyli, A., Deutsch, M. & Archimandritis, A. J. (2008). Adverse drug reactions as a cause of hospital admissions: a 6-month experience in a single center in greece. *European Journal of Internal Medicine*, 19, 505-510.
- Allevato, M. (2009). Genética e psicofarmacologia: a ciência a serviço da arte. *Psychiatry on Line Brasil*, 14 (4). Acedido em Set. 20, 2010, disponível em: <http://www.polbr.med.br/ano09/far0409.php>.
- Audi, E. A. & Pussi, F. D. (2000). Isoenzimas do CYP450 e biotransformação de drogas. *Acta Scientiarum*, 22 (2), 599-604.
- Balayssac, D., Authier, N., Cayre, A. & Coudore, F. (2005). Does inhibition of P-glycoprotein lead to drug-drug interactions? *Toxicology Letters*, 156, 319-329.
- Barcellos, H. H. A., Oliveira, S. T., Alves, L. P., Motta, A. C., Rocha, F. R. & Brun, M. V. (2006). Intoxicação por enrofloxacin em um cão da raça pinscher miniatura: relato de caso. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 58 (1), 39-43.
- Bertoli, R., Bissing, M., Caronzolo, D., Odorico, M., Pons, M. & Bernasconi, E. (2010). Assessment of potential drug-drug interactions at hospital discharge. *Swiss Medical Weekly*, 1-6.
- Bock, K. W. (2003). Vertebrate UDP-glucuronosyltransferases: function and evolutionary aspects. *Biochemical Pharmacology*, 66, 691-696.
- Bodor, M. (2005). *Investigations on two major factors involved in drug metabolism: cytochrome P450 2D6 and p-glycoprotein*. Ph.D. Thesis. University of Debrecen: Medical and Health Science Center.
- Cavalcante, L. F., Gouvêa, A. S. & Marques, J. M. (2009). Degeneração retiniana em gatos associada ao uso de enrofloxacin - artigo de revisão. *Acta Veterinaria Brasilica*, 3 (2), 62-68.
- Chauret, N., Gauthier, A., Martin, J. & Griffith, D. A. N. (1997). In vitro comparison of cytochrome P450-mediated metabolic activities in human, dog, cat and horse. *Drug Metabolism and Disposition*, 25 (10), 1130-1136.
- Chicoine, A. (2008). Drug interactions: the role of cytochrome P450 in clinical practice. *CVC Proceedings, Baltimore, 18-21 April*. Acedido em Jun. 3, 2010, disponível em: <http://veterinarycalendar.dvm360.com/avhc/Medicine/Drug-interactions-The-role-of-cytochrome-P450-in-c/ArticleStandard/Article/detail/581770?contextCategoryId=47595>.

- Cribb, A. (2003). Metabolism: the cytochrome P450s of the dog [versão electrónica]. In T. Whitem (Ed.), *Proceedings of the 13th Biennial Symposium of The American Academy of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, Charlotte, North Carolina, 3-5 June*, pp. 30-34. Acedido em Jun. 10, 2010, disponível em: http://www.ivis.org/proceedings/aavpt/2003/aavpt_2003.pdf.
- Day, M. J. (2008). Glucocorticosteroids and antihistamines. In J. E. Maddison, S. W. Page & D. Church, *Small Animal Clinical Pharmacology*. (2nd ed). pp. 261-269. Philadelphia: Saunders Elsevier.
- Dowling, P. (2006). Pharmacogenetics: it's not just about ivermectin in collies. *Canadian Veterinary Journal*, 47 (12), 1165-1168.
- Erkens, T., Daminet, S., Rogiers, C., Gommeren, K., Lampo, E., Donckt, D. V., Broeke, A. V., Poucke, M. V., Zeveren, A. V. & Peelman, L. J. (2009). Presence of the *ABCB1* (*MDR1*) deletion mutation causing ivermectin hypersensitivity in certain dog breeds in Belgium. *Flemish Veterinary Journal*, 78, 256-260.
- Faculdade de Medicina da Universidade do Porto (2003). *Interacções farmacológicas*. Porto: FMUP. Acedido em Jun. 8, 2010, disponível em: http://medicina.med.up.pt/farmacologia/pdf/Interaccoes_farmacologicas.pdf.
- Farcas, A., Sinpetrean, A., Mogosan, C., Palage, M., Vostinaru, O., Bojita, M. & Dumitrascu, D. (2010). Adverse drug reactions by stimulated spontaneous reporting in an internal medicine department in Romania. *European Journal of Internal Medicine*, 1-5.
- Fink-Gremmels, J. (2008). Implications of hepatic cytochrome P450-related biotransformation processes in veterinary sciences. *European Journal of Pharmacology*, 585, 502-509.
- Flockhart, D. A. (2005). *FDA pharmacogenetic labels: a clinical perspective* [Powerpoint slides]. Acedido em Jun. 23, 2010, disponível em: <http://www.fda.gov/Drugs/DevelopmentApprovalProcess/DevelopmentResources/DrugInteractionsLabeling/ucm167347.htm>.
- Giacomini, K. M., Huang, S., Tweedie, D. J., Benet, L. Z., Brouwer, K. L. R., Chu, X., Dahlin, A., Evers, R., Fischer, V., Hillgren, K. M., Hoffmaster, K. A., Ishikawa, T., Keppler, D., Kim, R. B., Lee, C. A., Niemi, M., Polli, J. W., Sugiyama, Y., Swaan, P. W., Ware, J. A., Wright, S. H., Yee, S. W., Zamek-Gliszczynski, M. J. & Zang, L. (2010). Membrane transporters in drug development. *Nature Reviews*, 9, 215-236.
- Glue, P. & Clement, R. P. (1999). Cytochrome P450 enzymes and drug metabolism - basic concepts and methods of assessment. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 19 (3), 309-323.
- Gómez-Moreno, G., Guardia, J., Cutando, A. & Calvo-Guirado, J. L. (2009). Pharmacological interactions of anti-microbial agents in odontology. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*, 14 (3), E123-8.

- Graham, R. A., Dowley, A., Mudra, D., Krueger, L., Carroll, K., Chengelis, C., Madan, A. & Parkinson, A. (2002). In vivo and in vitro induction of cytochrome P450 enzymes in beagle dogs. *Drug Metabolism and Disposition: The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 30 (11), 1206-1213.
- Guengerich, F. P. (1997). Comparisons of catalytic selectivity of cytochrome P450 subfamily enzymes from different species. *Chemico-Biological Interactions*, 106, 161-182.
- Hasler, J. A., Estabrook, R., Murray, M., Pikuleva, I., Waterman, M., Capdevila, J., Holla, V., Helvig, C., Falck, J. R., Farrell, G., Kaminsky, L. S., Spivack, S. D., Boitier, E. & Beaune, P. (1999). Human cytochromes P450. *Molecular Aspects of Medicine*, 20, 1-137.
- Hickman, M. A., Cox, S. R., Mahabir, S., Miskell, C., Lin, J., Bunker, A. & McCall, R. B. (2008). Safety, pharmacokinetics and use of the novel NK-1 receptor antagonist maropitant (Cerenia) for the prevention of emesis and motion sickness in cats. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 31 (3), 220-229.
- Hisaka, A., Ohno, Y., Yamamoto, T. & Suzuki, H. (2010). Prediction of pharmacokinetic drug-drug interaction caused by changes in cytochrome P450 activity using in vivo information. *Pharmacology and Therapeutics*, 125, 230-248.
- Holden, D. (2009). Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). In M. Felix & S. Marti (Eds.), *Proceedings of the Southern European Veterinary Conference, Barcelona, Spain, 2-4, October*, pp. 1-2. Acedido em Set. 20, 2010, disponível em : <http://www.ivis.org/proceedings/sevc/2009/eng/holden6.pdf>.
- Huber, P. C., Mauruiama, C. H. & Almeida, W. P. (2010). Glicoproteína-P, resistência a múltiplas drogas (MDR) e relação estrutura-atividade de moduladores [versão electrónica]. *Química Nova*, XY (00), 1-7. Acedido em Set. 20, 2010, disponível em: <http://quimicanova.sbq.org.br/qn/No%20Prelo/RV/RV10046.pdf>.
- Infarmed, Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde. (2010). *Prontuário terapêutico*. Acedido em Maio, 16, 2010, disponível em: <http://www.infarmed.pt/prontuario/index.php>.
- Ito, K. & Sugiyama, Y. (2010). Use of clearance concepts and modeling techniques in the prediction of metabolic drug-drug interactions. *Trends in Pharmacological Sciences*, 795, 1-5.
- Ivama, A. M. & Souza, N. R. (2005). A importância da farmacovigilância: monitorização da segurança dos medicamentos. *Revista Racine*, 86, 82-88.
- Jetté, L., Pouliot, J. F., Murphy, G. F. & Béliveau, R. (1995). Isoform I (mdr3) is the major form of P-glycoprotein expressed in mouse brain capillaries. *Biochemical Journal*, 305, 761-766.
- Junqueira, L. C. & Carneiro, J. (1999). *Histologia básica* (9ª ed.). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

- Juranka, P. F., Zastawny, R. L. & Ling, V. (1989). P-glycoprotein: multidrug resistance and a superfamily of membrane-associated transport proteins. *The FASEB Journal*, 3, 2583-2592.
- Karriker, M. (2007). Predisposição genética para reacções adversas a medicamentos no cão. *Veterinary Focus*, 12 (2), 11-17. Acedido em Nov. 15, 2010, disponível em: <http://www.royalcanin.com.br/media/images/site-0B/13/00000000000017EC.pdf>.
- Kiang, T. K. L., Ensom, M. H. H. & Chang, T. K. H. (2005). UDP-glucuronosyltransferases and clinical drug-drug interactions. *Pharmacology and Therapeutics*, 106, 97-132.
- King, M. W. (2010). The solute carrier family of transporters. Acedido em Set. 20, 2010, disponível em: <http://themedicalbiochemistrypage.org/membranes.html>.
- Kitteringham, N. R., Pirmohamed, M. & Park, B. K. (1998). The pharmacology of the cytochrome P450 enzyme system. *Baillière's Clinical Anaesthesiology*, 12 (2), 191-211.
- Kuroha, M., Kuze, Y., Shimoda, M. & Kokue, E. (2002). In vitro characterization of the inhibitory effects of ketoconazole on metabolic activities of cytochromes P-450 in canine hepatic microsomes. *American Journal of Veterinary Research*, 63 (6), 900-905.
- Larson, K. (2002). *Incidence of drug interactions in veterinary critical care patients*. University Honors College Honors Thesis.
- Lefebvre, H. P. (2007). Drug use in renal failure. In D. Sheehan, J. Maddison, D. Church, L. Walker, R. Clarke, B. Romberg, K. Seksel, M. Retchford, J. Beranek & N. Neumann (Eds.), *Proceedings of the 32nd World Small Animal Veterinary Association Congress, Sidney, Australia, 19-23 August*, pp. 1-4.
- Lefebvre, H. P., Tosser-Klopp, G., Toutain, P. L. & Hatey, F. (2003). Evaluating variability in drug response: pharmacogenetics. [versão electrónica]. In T. Whitem (Ed.), *Proceedings of the 13th Biennial Symposium of The American Academy of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, Charlotte, North Carolina, 3-5 June*, pp. 20-22. Acedido em Jun. 10, 2010, disponível em: http://www.avis.org/proceedings/aavpt/2003/aavpt_2003.pdf.
- Levêque, D., Lemachatti, J., Nivoix, Y., Coliat, P., Santucci, R., Ubeaud-Séquier, G., Beretz, L. & Vinzio, S. (2010). Mécanismes des interactions médicamenteuses d'origine pharmacocinétique. *La Revue de Médecine Interne*, 31, 170-179.
- Lewis, D. F. V. & Wiseman, A. (2005). A selective review of bacterial forms of cytochrome P450 enzymes. *Enzyme and Microbial Technology*, 36, 377-384.
- Lin, J. H. & Yamazaki, M. (2003). Role of P-glycoprotein in pharmacokinetics, clinical implications. *Clinical Pharmacokinetic*, 42 (1), 59-98.
- Linardi, R. L. & Natalini, C. C. (2006). Multi-drug resistance (MDR1) gene and P-glycoprotein influence on pharmacokinetic and pharmacodynamic of therapeutic drugs. *Ciência Rural*, 36 (1)
- Machado, C. G., Calado, R. T., Garcia, A. B. & Falcão, R. P. (2003). Age-related changes of the multidrug resistance p-glycoprotein function in normal human peripheral blood t lymphocytes. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 36, 1653-1657.

- Maddison, J. E. & Page, S. W. (2008). Adverse drug reactions. In J. E. Maddison, S. W. Page & D. Church, *Small Animal Clinical Pharmacology*. (2nd ed). pp. 41-58. Philadelphia: Saunders Elsevier.
- Magalhães, S. M. S. & Carvalho, W. S. (2001). Reações adversas a medicamentos. In M. J. V. M Gomes, A. M. M. Reis, *Ciências Farmacêuticas: uma abordagem em farmácia hospitalar*. (pp. 125-146). São Paulo: Atheneu.
- Manzi, S. F. & Shannon, M. (2005). Drug interactions - a review. *Clinical Pediatric Emergency Medicine*, 6, 93-102.
- Marchetti, S., Mazzanti, R., Beijnen, J. H. & Schellens, J. H. M. (2007). Concise review: clinical relevance of drug-drug and herb-drug interactions mediated by ABC transporter ABCB1 (MDR1, P-glycoprotein). *The Oncologist*, 12, 927-941.
- Martignoni, M., Groothuis, G. M. M. & Kanter, R. (2006). Species differences between mouse, rat, dog, monkey and human cytochrome P450-mediated drug metabolism, inhibition and induction. *Expert Opinion on Drug Metabolism and Toxicology*, 2 (6), 875-894.
- Martinez, M., McDermott, P. & Walker, R. (2006). Pharmacology of the fluoroquinolones: a perspective for the use in domestic animals. *The Veterinary Journal*, 172, 10-28.
- Martín-Jiménez, T. (2010). What we know and don't know about drug interactions [versão electrónica]. *Proceedings of the 82nd Western Veterinary Conference, Las Vegas, Nevada, 14-18 February*. Acedido em Jun. 3, 2010, disponível em: <http://wvc.omnibooksonline.com/>.
- Mealey, K. L. (2006). Clinically relevant drug interactions in small animals [versão electrónica]. *Proceedings of the 78th Annual Western Veterinary Conference, Las Vegas, Nevada, 19-23 February*. Acedido em Jun. 3, 2010, disponível em: <http://wvc.omnibooksonline.com/>.
- Mealey, K. L., Jabbes, M., Spencer, E. & Akey, J. M. (2008). Differential expression of CYP3A12 and CYP3A26 mRNAs in canine liver and intestine. *Xenobiotica*, 38 (10), 1305-1312.
- Mealey, K. L., Northrup, N. C., Bentjen, S. A. (2003). Increased toxicity of p-glycoprotein-substrate chemotherapeutic agents in a dog with the *mdr1* deletion mutation associated with ivermectin sensitivity. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 223 (10), 1453-1455.
- Meunier, B., Visser, S. P. & Shaik, S. (2004). Mechanism of oxidation reactions catalyzed by cytochrome P450 enzymes. *Chemical Reviews*, 104, 3947-3980.
- Meyer, A. (1996). Overview of enzymes of drug metabolism. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*, 24 (5), 449-459.

- Mise, M., Yadera, S., Matsuda, M., Hashizume, T., Matsumoto, S., Terauchi, Y. & Fujii, T. (2003). Polymorphic expression of CYP1A2 leading to interindividual variability in metabolism of a novel benzodiazepine receptor partial inverse agonist in dogs. *Drug Metabolism and Disposition: The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 32 (2), 240-245.
- Modric, S. & Martinez, M. (2007). Patient variation in veterinary medicine. *Proceedings of 15th Biennial Symposium of the American Academy of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, Pacific Grove, California, 20-24 May*.
- Murrel, J. (2008). NSAIDs: safe and effective analgesics or potential killers? In M. Verde, I. Gómez, C. Burrows, M. Fando, J. Gaerrero, D. Harris & V. Rivero (Eds.), *Proceedings of the Southern European Veterinary Conference, Barcelona, Spain, 17-19, October*, pp. 1-3. Acedido em Set. 20, 2010, disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/sevc/2008/murrel3.pdf>.
- Nebbia, C. (2001). Biotransformation enzymes as determinants of xenobiotic toxicity in domestic animals. *The Veterinary Journal*, 161, 238-252.
- Oga, S., Yasaka, W. J. & Jen, L. H. (2003). A importância da glicoproteína P (P-gp) e dos polipeptídeos transportadores de ânions orgânicos (OATP) nas interações medicamentosas. *Revista Brasileira de Medicina*, 60 (3), 121-130.
- Okamura, N., Sakaeda, T. & Okumura, K. (2004). Pharmacogenomics of MDR and MRP subfamilies. *Personalized Medicine*, 1 (1), 85-104.
- Oostendorp, R. L., Beijnen, J. H. & Schellens, J. H. M. (2009). The biological and clinical role of drug transporters at the intestinal barrier. *Cancer Treatment Reviews*, 35, 137-147.
- Oshima-Franco, Y. & Franco, L. M. (2003). Biotransformação: importância e toxicidade. *Saúde em Revista*, 5 (9), 69-76.
- Page, S. W. & Maddison, J. E. (2008). Principles of clinical pharmacology. In J. E. Maddison, S. W. Page & D. Church, *Small Animal Clinical Pharmacology*. (2nd ed). pp. 1-26. Philadelphia: Saunders Elsevier.
- Papich, M.G. (2007). Drug interactions in animals: what happens when we mix drugs? [versão electrónica]. In D. Sheehan, J. Maddison, D. Church, L. Walker, R. Clarke, B. Romberg, K. Seksel, M. Retchford, J. Beranek & N. Neumann (Eds.), *Proceedings of the 32nd World Small Animal Veterinary Association Congress, Sidney, Australia, 19-23 August*. Acedido em Maio, 23, 2010, disponível em: http://www.ivis.org/proceedings/Wsava/2007/pdf/62_20070401201009_abs.pdf.
- Park, B. K., Pirmohamed, M. & Kitteringham, N. R. (1995). The role of cytochrome P450 enzymes in hepatic and extrahepatic human drug toxicity. *Pharmacology and Therapeutics*, 68 (3), 385-424.
- Park, S. W., Lomri, N., Simeoni, L. A., Fruehauf, J. P. & Mechetner, E. (2003). Analysis of p-glycoprotein mediated membrane transport in human peripheral blood lymphocytes using the uic2 shift assay. *Cytometry Part A*, 53 (A), 67-78.

- Parkinson, A. (2001). Biotransformation of xenobiotics. In Klaassen C. D., Casarett & Doull's *Toxicology: The Basic Science of Poisons* (9th ed.). pp. 133-224. New York: McGraw-Hill.
- Petushkova, N. A., Kanaeva, I. P., Lisitsa, A. V., Sheremetyeva, G. F., Zgoda, V. G., Samenkova, N. F., Karuzina, I. I. & Archakov, A. I. (2006). Characterization of human liver cytochromes P450 by combining the biochemical and proteomic approaches. *Toxicology in Vitro*, 20, 966-974.
- Pina, E. S. (2000). Antibióticos e quimioterápicos na clínica veterinária dos pequenos animais. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
- Pirmohamed, M., James, S., Meakin, S., Green, C., Scott, A. K., Walley, T. J., Farrar, K., Park, B. K. & Breckenridge, A. M. (2004). Adverse drug reactions as cause of admission to hospital: prospective analysis of 18 820 patients. *British Medical Journal*, 329, 15-19.
- Plumb, D. C. (2005). *Plumb's veterinary drug handbook*. (5th ed.). Iowa: Blackwell Publishing.
- Ramos, M. G. S. (1999). *Estudo da hepatotoxicidade de um medicamento em hepatócitos isolados de rato*. Dissertação de Mestrado em Controlo de Qualidade na área específica de Medicamentos e Plantas Medicinais. Porto: Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto.
- Ramsey, I. (2008). *Bsava small animal formulary* (6th ed.). Gloucester: British Small Animal Veterinary Association.
- Santiago, L. M. (2003). A metabolização no sistema citocromo P450 e a sua importância em clínica geral. *Revista Portuguesa de Clínica Geral*, 19, 121-129.
- Saudagar, P. S., Survase, S. A. & Singhal, R. S. (2008). Clavulanic acid: a review. *Biotechnology advances*, 26, 335-351.
- Schrickx, J. A. & Fink-Gremmels, J. (2008). Implications of ABC transporters on the disposition of typical veterinary medicinal products. *European Journal of Pharmacology*, 585, 510-519.
- Shapiro, L. E. & Shear, N. H. (2001). Drug interactions/P450. *Current Problems in Dermatology*, May/June, 141-152.
- Sharkey, M., Martinez, M., Modric, S., Troutman, L. & Walker, L. (2008). Understanding genetic variability in dogs and its potential role in drug development. *FDA Veterinarian Newsletter*, Volume XXIII (1). Acedido em Nov. 15, 2010, disponível em: <http://www.fda.gov/AnimalVeterinary/NewsEvents/FDAVeterinarianNewsletter/ucm083976.htm>.
- Silvado, C. (2008). Farmacogenética e antiepilépticos (farmacologia das drogas epiléticas: da teoria à prática). *Journal of Epilepsy and Clinical Neurophysiology*, 14, 51-56.

- Sparreboom, A., Danesi, R., Ando, Y., Chan, J. & Figg, W. D. (2003). Pharmacogenomics of ABC transporters and its role in cancer chemotherapy. *Drug Resistance Updates*, 6, 71-84.
- Spencer, E. S., Minch, J., Lahmers, K. K., Haldorson, G. J. & Mealey, K. L. (2010). Canine ABCB4: tissue expression and cDNA structure. *Research in Veterinary Science*, 89, 65-71.
- Szakács, G., Váradi, A., Özvegy-Laczka, C. & Sarkadi, B. (2008). The role of ABC transporters in drug absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicity (admetox). *Drug Discovery Today*, 13 (9/10), 379-393.
- Taheri, M., Mahjoubi, F. & Omranipour, R. (2010). Effect of MDR1 polymorphism on multidrug resistance expression in breast cancer patients. *Genetics and Molecular Research*, 9 (1), 34-40.
- Tennant, B. C. & Center, S. A. (2008). Hepatic function. In J. J. Kaneko, J. W. Harvey & M. L. Bruss, *Clinical Biochemistry of Domestic Animals* (6th ed.). pp. 379-412. USA: Elsevier.
- Trepanier, L. A. (2001b). Avoiding adverse drug reactions. In M. Scherk (Ed.), *Proceedings of the 26th World Small Animal Veterinary Association, Vancouver, Canada, 8-11 August*, pp. 1-5. Acedido em Out. 20, 2010, disponível em: <http://www.vin.com/VINDBPub/SearchPB/Proceedings/PR05000/PR00193.htm>.
- Trepanier, L. A. (2001a). Update on bromide and phenobarbital. In M. Scherk (Ed.), *Proceedings of the 26th World Small Animal Veterinary Association, Vancouver, Canada, 8-11 August*, pp. 1-3. Acedido em Out. 20, 2010, disponível em: <http://www.vin.com/VINDBPub/SearchPB/Proceedings/PR05000/PR00194.htm>.
- Trepanier, L. A. (2003). Cytochrome P450's in dogs: families and pharmacogenetics [versão electrónica]. In T. Whittem (Ed.), *Proceedings of the 13th Biennial Symposium of The American Academy of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, Charlotte, North Carolina, 3-5 June*, pp. 35-39. Acedido em Jun. 10, 2010, disponível em: http://www.ivis.org/proceedings/aavpt/2003/aavpt_2003.pdf.
- Trepanier, L. A. (2006). Cytochrome P450 and its role in veterinary drug interactions. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 36, 975-985.
- Trepanier, L. A. (2008). Top ten potential drug interactions in dogs and cats [versão electrónica]. In N. Neumann, B. Romberg, A. Byrne, M. Gething, & B. Jones (Eds.), *Proceedings of the 33rd World Small Animal Veterinary Congress, Dublin, Ireland, 20-24 August*, pp. 573-575. Acedido em Maio, 23, 2010, disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2008/lecture23/183.pdf?LA=1>.
- Varma, M. V. S., Ashokraj, Y., Dey, C. S. & Panchagnula, R. (2003). P-glycoprotein inhibitors and their screening: a perspective from bioavailability enhancement. *Pharmacological Research*, 48, 347-359.
- Walker, R. D. & Guiguère, S. (2006). Principles of antimicrobial drug selection and use. In S. Guiguère, J. F. Prescott, J. D. Baggot, R. D. Walker & P. M. Dowling, *Antimicrobial therapy in veterinary medicine*. (4th ed.). (pp. 107-117). Iowa: Blackwell Publishing.

- Werck-Reichhart, D. & Feyereisen, R. (2000). Cytochrome P450: a success story. *Genome Biology*, 1 (6), 3003.1-3003.9.
- Xu, C., Li, C. Y. T. & Kong, A. N. T. (2005). Induction of phase I, II and III drug metabolism/transport by xenobiotics. *Archives of Pharmacal Research*, 28 (3), 249-268.
- Zhang, L., Reynolds, K. S., Zhao, P. & Huang, S. (2010). Drug interactions evaluation: an integrated part of risk assessment of therapeutics. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 243, 134-145.
- Zhang, L., Strong, J. M., Qiu, W., Lesko, L. J. & Huang, S. M. (2005). Scientific perspectives on drug transporters and their role in drug interactions. *Molecular Pharmaceutics*, 3 (9), 62-69.
- Zhang, L., Zhang, Y. & Huang, S. (2009). Scientific and regulatory perspectives on metabolizing enzyme – transporter interplay and its role in drug interactions: challenges in predicting drug interactions. *Molecular Pharmaceutics*, 6 (6), 1766-1774.

ANEXOS

Anexo 1: Principais transportadores SLC de origem humana envolvidos em interacções farmacocinéticas: substratos e inibidores (adaptado de Oga et al., 2003; Giacomini et al., 2010)

Proteína	Substratos	Inibidores	Principal localização
PEPT1	Glicilsarcosina, cefalexina, cefadroxil, bestatina, valaciclovir, enalapril, ácido aminolevulínico, captopril, dipéptidos, tripéptidos	Glicilprolina	Enterócitos, Células epiteliais dos túbulos proximais renais
OATP1B1	Bromosulfoftaleína, estrona-3-sulfato, estradiol-17 β -glucuronídeo, estatinas, repaglinida, valsartan, olmesartan, bilirrubina, ácidos biliares	Saquinavir, ritonavir, lopinavir, rifanpicina, ciclosporina	Hepatócitos sinusoidais
OATP2B1	Estrona-3-sulfato, bromosulfoftaleína, taurocolato, estatinas, fexofenadina, gliburida	Rifampicina, ciclosporina	Hepatócitos sinusoidais, células endoteliais
OCT1	Tetraetilamónio, <i>N</i> -metilpiridínio, metformina, oxaliplatina	Quinina, quinidina, disopiramida	Hepatócitos sinusoidais, enterócitos
OCT2	Tetraetilamónio, <i>N</i> -metilpiridínio, metformina, pindolol, procainamida, ranitidina, amantadina, amilorida, oxaliplatina, vareniclina	Cimetidina, pilsicainida, cetirizina, testosterona, quinidina	Neurónios, células epiteliais dos túbulos proximais renais
OAT1	Para-aminoipurato, adefovir, cidofovir, zidovudina, lamivudina, zalcitabina, aciclovir, tenofovir, ciprofloxacina, metotrexato	Probenecid, novobiocina	Placenta, células epiteliais dos túbulos proximais renais
OAT3	Estrona-3-sulfato, AINE's, cefaclor, ceftizoxima, furosemida, bumetanida	Probenecid, novobiocina	Células epiteliais dos túbulos proximais renais, Barreira hemato-encefálica, Plexo coróide
MATE1	Metformina, <i>N</i> -metilpiridínio, tetraetilamónio	Cimetidina, quinidina, procainamida	Células epiteliais dos túbulos proximais renais, células epiteliais dos canalículos biliares, músculo estriado esquelético

Anexo 2: Caracterização geral da população incluída no estudo

N.º Caso Clínico	Nome do Animal	Espécie	Género	Fertilidade	Raça	Idade	Peso (Kg)
1	Shakira	Canídeo	Fêmea	Inteira	Ind.	4 anos	5,95
2	Wally	Felídeo	Macho	Castrado	Europeu comum	Ind.	6
3	Morgana	Felídeo	Fêmea	Inteira	Europeu comum	9 anos	4,9
4	Gil	Felídeo	Macho	Castrado	Bosques da Noruega	10 anos	5
5	Nick	Felídeo	Macho	Castrado	Europeu comum	13 anos	4,65
6	Biri	Felídeo	Macho	Inteiro	Europeu comum	7 anos	5,8
7	Páscoa	Felídeo	Fêmea	Inteira	Europeu comum	Ind.	3,1
8	Rudi	Canídeo	Macho	Inteiro	Bull Terrier	3 anos	22,3
9	Princesa	Felídeo	Fêmea	Inteira	Siamês	Ind.	4,5
10	Bill	Canídeo	Macho	Inteiro	Perdigueiro Português	9 anos	22
11	Kiko	Canídeo	Macho	Inteiro	Yorkshire Terrier	3 anos	5,5
12	Malhadinha	Felídeo	Macho	Castrado	Europeu comum	17 anos	2,6
13	Mustafa	Canídeo	Macho	Inteiro	Shar-Pei	10 anos	20
14	Sininho	Felídeo	Fêmea	Inteira	Europeu comum	5 meses	2,55
15	Sayang	Canídeo	Fêmea	Castrada	Ind.	4 anos	29
16	Nininhas	Canídeo	Macho	Inteiro	Ind.	Ind.	11,2
17	Noddy	Canídeo	Macho	Inteiro	Caniche	3 anos	7,5
18	Charlie	Canídeo	Macho	Inteiro	Cocker Spaniel	Ind.	15
19	Tomás	Canídeo	Macho	Inteiro	Labrador Retriever	Ind.	35,25
20	Cuca	Felídeo	Fêmea	Castrada	Persa	5 anos	3,3
21	Bruna Barata	Canídeo	Fêmea	Castrada	Schnauzer	15 anos	4,9
22	Rufi	Canídeo	Macho	Inteiro	Shit-zhu	1,5 anos	4,95
23	Lucky	Canídeo	Fêmea	Inteira	Caniche	12 anos	4,85
24	Totta	Canídeo	Fêmea	Inteira	Ind.	Ind.	10
25	Ginja	Canídeo	Fêmea	Inteira	Boxer	Ind.	20

Legenda: Ind. = indeterminada.

Anexo 3: Principais estímulos iatrotópicos/sinais clínicos registados no acto da consulta

N.º Caso Clínico	Estímulo Iatrotópico / Sinais Clínicos	Diagnóstico / Suspeita	Medicação anterior
1	Fractura da maxila	Fractura nasal, maxilar e do palato direitos	
2	Traumatismo	Traumatismo craniano/toracolombar	
	Hipotermia		
	Schiff sherrinton		
3	Corrimento vaginal purulento	Piómetra aberta Suspeita de fibrossarcoma	AINE
	Prostração		
	Febre		
	Massa subcutânea costal		
4	Oligúria	FLUTD	Enrofloxacina Ácido tolfenâmico
	Hematúria		
	Urolitíase		
	Polidipsia		
5	Atropelamento	Fractura/luxação rádio-cárpica no membro anterior esquerdo	
6	Oligúria	IRA	Antibioterapia
	Disúria		
	Hipotermia		
7	Vómito agudo	Cistite Urolitíase por cálculos de estruvite	
	Disúria		
	Desidratação		
8	Vómito crónico	Presença de corpo estranho GI	
	Anorexia		
	Dor abdominal cranial		
9	Desidratação	Suspeita de panleucopénia de origem viral (FIV/FeLV negativo testado anteriormente)	
	Prostração		
10	Febre	Pancreatite Suspeita de Leishmaniose	
	Anorexia		
	Linfadenomegália superficial		
	Dor abdominal cranial		
11	Vómito agudo	Gastroenterite hemorrágica	
	Diarreia hemorrágica aguda		
	Hipotermia		
12	Hipotermia	IRC	
	Desidratação		
	Vómito crónico		
	Anorexia		
	Caquexia		
13	Hipotermia	IRC Hepatite	
	Vómito agudo		
	Desidratação		
	Anorexia		
	Prostração		
	Dor abdominal		

Anexo 3 (continuação I): Principais estímulos iatrotópicos/sinais clínicos registados no acto da consulta

N.º Caso Clínico	Estímulo Iatrotópico / Sinais Clínicos	Diagnóstico / Suspeita	Medicação anterior
14	Vómito agudo	Suspeita de gastroenterite de origem infecciosa	
	Diarreia aguda		
	Hematoquézia		
	Desidratação		
	Prostração		
15	Hipoadrenocorticismo diagnosticado	Crise Addisoniana Suspeita de corpo estranho GI Peritonite	Prednisolona Fludrocortisona
	Vómito agudo		
	Dor abdominal intensa		
	Fraqueza muscular generalizada		
	Suspeita de ingestão de CE (penso higiénico)		
16	ICC e IRC diagnosticadas	ICC Agudização da IRC	
	Anorexia		
	Caquexia		
17	Vómito agudo	Suspeita de Pancreatite	
	Diarreia aguda		
	Dor abdominal		
18	Feocromocitoma diagnosticado na glândula adrenal direita	Feocromocitoma Insuficiência mitral e hipertrofia excêntrica e concêntrica do ventrículo esquerdo	Benazepril (Fortekor®; 5 mg, PO, SID)
	Insuficiência mitral e hipertrofia excêntrica e concêntrica do ventrículo esquerdo diagnosticadas		
	Sopro holossistólico grau III/IV esquerdo		
	Convulsões		
	Hipertensão arterial		
19	Leishmaniose diagnosticada	Leishmaniose Uveíte bilateral Orquite	
	Febre		
	Corrimento nasal/ocular		
	Prostração		
20	Ferida na axila (zona lacerada com cheiro acre e pele necrosada, membro inchado e hiperémico)	Ferida na axila resultante de ataque de cães	
	Febre		
21	Linfangiectasia e Enterite linfoplasmocítica diagnosticadas	Linfangiectasia e Enterite linfoplasmocítica	Prednisolona (Lepicortinolo®; 5 mg, PO, BID)
	Diarreia crónica		
	Anorexia		
	Caquexia		
	Desidratação		

Anexo 3 (continuação II): Principais estímulos iatrotópicos/sinais clínicos registados no acto da consulta

N.º Caso Clínico	Estímulo Iatrotópico / Sinais Clínicos	Diagnóstico / Suspeita	Medicação anterior
22	Vômito agudo		
	Diarreia hemorrágica aguda		
	Sialorreia intensa	Gastroenterite hemorrágica	
	Anorexia		
	Dor abdominal		
23	Caquexia	IRC Pielonefrite Endometrite Suspeita de tromboembolismo	
	Desidratação		
	Halitose		
	Ulceração da mucosa oral		
	Déficit de pulso no membro posterior esquerdo		
	Pulso fraco no membro posterior direito		
	Nódulo mamário inguinal e galactorreia		
24	Referenciada de outra clínica veterinária para OVH por piómetra	Piómetra aberta IRA	
25	Administração de diclofenaco (Voltaren®) pelos proprietários por claudicação do membro posterior direito	Hepatite	Diclofenaco (Voltaren®)
	Vômito agudo	IRA	
	Diarreia aguda	Ulceração GI	
	Discoespondilose lombar diagnosticada		

Anexo 4: Principais alterações detectadas nos exames complementares de diagnóstico realizados durante o período de hospitalização

N.º Caso Clínico	Exames Complementares	Momento da Realização	Principais Alterações	Valores de Referência
1	Radiografia craniana	1º dia internamento	Fractura nasal, maxilar e do palato direitos	
2	Análises bioquímicas (I-STAT GATO)	1º dia internamento	pH = 7,568	7,25 - 7,40
3	Hemograma	1º dia internamento	Leucócitos = 3,84	5,50 - 19,50 X10 ⁹ /L
			Neutrófilos = 2,11	2,50 - 12,50 X10 ⁹ /L
	Análises bioquímicas (Painel V)	1º dia internamento	Sem alterações	
	Ecografia abdominal	1º dia internamento	Piometra aberta	
	Radiografia torácica	2º dia internamento	Sem alterações evidentes	
	PAAF de massa subcutânea costal e citologia	2º dia internamento	Suspeita de tumor mesenquimatoso	
4	Hemograma	1º dia internamento	Sem alterações	
	Análises bioquímicas (I-STAT GATO)	1º dia internamento	K ⁺ = 6	2,9 - 4,2 mmol/L
			TCO ₂ = 9,2	16 - 25 mmol/L
			Ureia = 136	15 - 34 mg/dL
			pH = 7,18	7,25 - 7,40
			PCO ₂ = 25	33 - 51 mmHg
			HCO ₃ = 8,4	13 - 25 mmol/L
	Análise de urina tipo I (colheita por expressão)	1º dia internamento	Proteína = 5	negativo (mg/dL)
			Urobilinogénio = 70 mg/dL	
			Sangue = 250	negativo (Ery/ μ L)
			Corpos cetónicos = 1,5	negativo - 0,5 mmol/L
			Leucócitos = 500	negativo (Leuko/ μ L)
	Creatinina	3º dia internamento	1,2	< 2 mg/dL
	Ureia	3º dia internamento	30	6 - 25 mg/dL
	Ecografia abdominal	4º dia internamento	Presença de líquido livre abdominal; peritonite	
	Creatinina de líquido livre abdominal	4º dia internamento	4,2	< 2 mg/dL
	Albumina	6º dia internamento	Albumina = 1,2	

Anexo 4 (continuação I): Principais alterações detectadas nos exames complementares de diagnóstico realizados durante o período de hospitalização

N.º Caso Clínico	Exames Complementares	Momento da Realização	Principais Alterações	Valores de Referência
5	Hemograma	1º dia internamento	Hematócrito = 29,9	30 - 45 %
			Neutrófilos = 16,96	2,50 - 12,50x10 ⁹ /L
	Análises bioquímicas (Painel V)	1º dia internamento	Ureia = 27	6 - 25 mg/dL
			Glucose = 168	50 - 130 mg/ dL
			ALT = 128	< 120 UI/L
	Radiografia torácica	1º dia internamento	Sem alterações evidentes	
	Radiografia membros anteriores	1º dia internamento	Fractura/luxação na articulação rádio-cárpica do membro anterior esquerdo	
6	Hemograma	1º dia internamento	Eritrócitos = 4,1	5 - 10x10 ¹² /L
			Hematócrito = 21,6	30 - 45 %
	Análises bioquímicas (Painel V)	1º dia internamento	Ureia > 200	6 - 25 mg/dL
			Creatinina = 21.2	< 2 mg/dL
	Análises bioquímicas (I-STAT GATO)	1º dia internamento	Na ⁺ = 138	147 - 162 mmol/L
			K ⁺ = 7	2,9 - 4,2 mmol/L
			TCO ₂ = 9	16 - 25 mmol/L
			Ureia = 300	15 - 34 mg/dL
			pH = 7,059	7,25 - 7,40
			PCO ₂ = 29,4	33 - 51 mmHg
			HCO ₃ = 8,3	13 - 25 mmol/L
	Análise de urina tipo II (colheita por cateterização urinária)	1º dia internamento	Aspecto: turvo	
			Depósito: presente	
			pH = 6,5	
			Densidade = 1016	
			Sangue = 250	Eritrócitos
			Eritrócitos = 50	< 5/campo (400)

Anexo 4 (continuação II): Principais alterações detectadas nos exames complementares de diagnóstico realizados durante o período de hospitalização

N.º Caso Clínico	Exames Complementares	Momento da Realização	Principais Alterações	Valores de Referência
6	Análises bioquímicas (I-STAT GATO)	2º dia internamento	Na ⁺ = 140	147 - 162 mmol/L
			TCO ₂ = 13	16 - 25 mmol/L
			Ureia = 123	15 - 34 mg/dL
			PCO ₂ = 29,4	33 - 51 mmHg
			HCO ₃ = 12,2	13 - 25 mmol/L
	Ureia	3º dia internamento	9	6 - 25 mg/dL
	Creatinina	3º dia internamento	1,4	< 2 mg/dL
7	Análises bioquímicas	1º dia internamento	Ureia = 37	6 - 25 mg/dL
			Creatinina = 2,7	< 2 mg/dL
			Proteínas totais = 8,4	6 - 8 g/dL
	Ecografia abdominal	1º dia internamento	Cistite exuberante	
			Estruturas aderentes à parede vesical com imagem hiperecogénica produzindo sombra acústica compatíveis com cálculos	
	Análise de urina tipo II (colheita por expressão)	2º dia internamento	Aspecto: turvo	
			Depósito: presente	
			pH = 8	
			Proteínas = 0,3 (+)	
			Glucose = 3 (+)	
			Sangue = 250 (4+)	eritrócitos
			Cristais: estruvite (4+)	
			Eritrócitos = 100	< 5/campo (400)
	Ecografia abdominal	3º dia internamento	Cálculos vesicais em nº de 4 a 6, produzindo sombra acústica, de dimensões entre 0,38 e 0,51 cm	
	Análises bioquímicas (Painel V e Cálcio)	4º dia internamento	Sem alterações	

Anexo 4 (continuação III): Principais alterações detectadas nos exames complementares de diagnóstico realizados durante o período de hospitalização

N.º Caso Clínico	Exames Complementares	Momento da Realização	Principais Alterações	Valores de Referência
8	Hemograma	1º dia internamento	Eritrócitos = 4,5	5,50 - 8,50x10 ¹² /L
			Hematócrito = 33,7	37 - 55%
			Leucócitos = 20,77	5,50 - 16,90x10 ⁹ /L
			Neutrófilos = 17,64	2 - 12x10 ⁹ /L
			Plaquetas = 139	175 - 500x10 ⁹ /L
	Análises bioquímicas (Painel V)	1º dia internamento	FA = 157	< 147 UI/L
	Análises bioquímicas (Status ácido-base e electrolítico/inonograma)	1º dia internamento	pH = 7,54	7,31 - 7,42
			HCO ₃ = 37,8	20 - 29 mmol/L
			Na ⁺ = 125	144 - 160 mmol/L
			K ⁺ = 2,4	3,5 - 5,8 mmol/L
			Cl ⁻ = 81	109 - 122 mmol/L
	Ecografia abdominal	1º dia internamento	Estômago distendido com líquido, cólon muito distendido com hipomotilidade, sem evidência de corpo estranho	
	Ecografia abdominal	2º dia internamento	Corpo estranho evidente com localização no intestino delgado e com largura de aproximadamente 3,5 cm	
9	Hemograma	1º dia internamento	Leucócitos = 1,82	5,50 - 19,50x10 ⁹ /L
			Neutrófilos = 0,90	2,50 - 12.50x10 ⁹ /L
			Plaquetas = 156	175 - 600x10 ⁹ /L
	Análises bioquímicas	1º dia internamento	Sem alterações	
	Hemograma	3º dia internamento	Leucócitos = 1,48	5,50 - 19,50x10 ⁹ /L
			Neutrófilos = 0,14	2,50 - 12.50x10 ⁹ /L
			Eosinófilos = 0,04	0,10 - 0,79x10 ⁹ /L
			Plaquetas = 141	175 - 600x10 ⁹ /L

Anexo 4 (continuação IV): Principais alterações detectadas nos exames complementares de diagnóstico realizados durante o período de hospitalização

N.º Caso Clínico	Exames Complementares	Momento da Realização	Principais Alterações	Valores de Referência
9	Esfregaço de sangue	3º dia internamento	Ligeira agregação plaquetária; leucopénia; ausência de hemoparasitas e de células blásticas (imaturas)	
	Hemograma	5º dia internamento	Hematócrito = 25,7	30 - 45%
			Leucócitos = 4,50	5,50 - 19,50x10 ⁹ /L
			Plaquetas = 56	175 - 600x10 ⁹ /L
10	Hemograma	1º dia internamento	Eritrócitos = 4,6	5,5 - 8,5x10 ⁹ /L
			VCM = 79	60 - 77
			CHCM = 40,1	30 - 37,5
			Leucócitos = 19,12	5,50 - 16,90x10 ⁹ /L
			Neutrófilos = 13,17	2 - 12x10 ⁹ /L
			Monócitos = 3,62	0,30 - 2x10 ⁹ /L
	Análises bioquímicas (Painel V)	1º dia internamento	ALT = 159	< 120 UI/L
	Ecografia abdominal	1º dia internamento	Linfadenomegália mesentérica; pâncreas enrugado, brilhante com edema peripancreático; meso cranial nos recessos hepáticos muito reactivo	
	Ecografia abdominal	2º dia internamento	Linfadenomegália mesentérica; congestão vascular generalizada; rins aumentados, hiperecogénicos e com perda da definição corticomedular; gordura mesentérica reactiva; estômago com espessamento focal da camada muscular; próstata com parênquima heterogéneo sem nódulos.	
	PAAF de linfonodos pré-escapular esquerdo e popliteo esquerdo e citologia	2º dia internamento	Linfonodos reactivos ou hiperplásicos	
11	Hemograma	1º dia internamento	Hematócrito = 63	37 - 55%
			Hemoglobina = 19,4	12 - 18 g/dL
			Plaquetas = 131	175 - 500x10 ⁹ /L

Anexo 4 (continuação V): Principais alterações detectadas nos exames complementares de diagnóstico realizados durante o período de hospitalização

N.º Caso Clínico	Exames Complementares	Momento da Realização	Principais Alterações	Valores de Referência
11	Análises bioquímicas (I-STAT CÃO)	1º dia internamento	Na ⁺ = 140	150 - 165 mmol/L
			Ureia = 44	10 - 26 mg/dL
			Hematócrito = 60	35 - 50%
			pH = 7,285	7,35 - 7,45
			PCO ₂ = 41,3	35 - 38 mmHg
			Hemoglobina = 20,4	12 - 17 g/dL
	Ecografia abdominal	2º dia internamento	Vesícula biliar distendida; pâncreas visível mas não reactivo; transição ileocólica espessada; cólon distendido com motilidade aumentada	
12	Análises bioquímicas	1º dia internamento	Ureia = 160	6 - 25 mg/dL
			Creatinina = 9,9	< 2 mg/dL
			Fósforo = 17,2	2,5 - 6 mg/dL
	Pressão arterial	1º dia internamento	PAS = 194	120 mmHg
			PAM = 208	
			PAD = 196	80 mmHg
	Análises bioquímicas	3º dia internamento	Ureia = 116	6 - 25 mg/dL
			Creatinina = 8,2	< 2 mg/dL
	Análises bioquímicas	5º dia internamento	Ureia = 98	6 - 25 mg/dL
			Creatinina = 8,4	< 2 mg/dL
			Fósforo = 10	2,5 - 6 mg/dL
	Análises bioquímicas (I-STAT GATO)	5º dia internamento	Na ⁺ = 143	147 - 162 mmol/L
			Ureia = 241	15 - 34 mg/dL
			Hematócrito = 11	24 - 40 %
			pH = 7,478	7,25 - 7,40
			PCO ₂ = 25,7	33 - 51 mmHg

Anexo 4 (continuação VI): Principais alterações detectadas nos exames complementares de diagnóstico realizados durante o período de hospitalização

N.º Caso Clínico	Exames Complementares	Momento da Realização	Principais Alterações	Valores de Referência
13	Hemograma	1º dia internamento	Leucócitos = 26,74	5,50 - 16,90x10 ⁹ /L
			Neutrófilos = 23,15	2 - 12x10 ⁹ /L
			Monócitos = 2,32	0,30 - 2x10 ⁹ /L
			Plaquetas = 94	175 - 500x10 ⁹ /L
	Análises bioquímicas	1º dia internamento	Ureia = 147	6 - 25 mg/dL
			FA = 264	< 147 UI/L
			Proteínas totais = 4,6	6 - 8 g/dL
			Creatinina = 10	< 2 mg/dL
			Albumina = 1,2	2 - 3 g/dL
			Bilirrubina total = 4,3	< 0,2 mg/dL
	Análises bioquímicas (I-STAT CÃO)	1º dia internamento	Na ⁺ = 127	150 - 165 mmol/L
			Cl ⁻ = 99	106 - 127 mmol/L
			TCO ₂ = 11	17 - 25 mmol/L
			Ureia = 295	10 - 26 mg/dL
			pH = 7,591	7,35 - 7,45
			PCO ₂ = 11,6	35 - 38 mmHg
			HCO ₃ = 11,1	15 - 23 mmol/L
	Ecografia abdominal	1º dia internamento	Baço com pequenos nódulos hipoeogénicos; hepatomegália; pâncreas visível; renomegália bilateral e córtex renal brilhante.	
	Ecografia abdominal	2º dia internamento	Evidência de enfarte/torção esplénica (vascularização ausente); hepatomegália; rins hipereogénicos; mesentério reactivo	

Anexo 4 (continuação VII): Principais alterações detectadas nos exames complementares de diagnóstico realizados durante o período de hospitalização

N.º Caso Clínico	Exames Complementares	Momento da Realização	Principais Alterações	Valores de Referência
14	Hemograma	1º dia internamento	Hematócrito = 49	30 - 45%
			Plaquetas = 12	175 - 600x10^9/L
	Análises bioquímicas (Painel V)	1º dia internamento	Sem alterações	
	Radiografia abdominal	1º dia internamento	Sem alterações evidentes	
	Ecografia abdominal	2º dia internamento	Estômago distendido com algum conteúdo líquido e gás; duodeno ligeiramente espessado e com parede irregular.	
	Hemograma	4º dia internamento	Hematócrito = 49,6	30 - 45%
Hemoglobina = 14,1			8,0 - 12,9 g/dL	
15	Hemograma	1º dia internamento	Leucócitos = 3,18	5,50 - 16,90x10^9/L
			Monócitos = 0,11	0,30 - 2x10^9/L
	Análises bioquímicas (Painel V)	1º dia internamento	Glucose = 208	40 - 150 mg/dL
			FA = 937	< 147 UI/L
			ALT = 272	< 120 UI/L
	Análises bioquímicas (I-STAT CÃO)	1º dia internamento	Na+ = 112	150 - 165 mmol/L
			Cl- = 86	106 - 127 mmol/L
			PCO2 = 30,6	35 - 38 mmHg
			BExc = 9	0 - (+6) mmol/L
	Hemoglobina = 11,9			12 - 17 g/dL
Radiografia abdominal	1º dia internamento	Ligeira perda de contraste		
Ecografia abdominal	2º dia internamento	Presença de líquido livre no abdómen caudal		
		Bexiga distendida com estruturas ecóicas em suspensão		
15	Análise de urina tipo II (colheita por cistocentese)	2º dia internamento	pH = 8	
			Densidade = 1042	
			Proteínas = 5 (3+)	
			Cristais: estruvite (1+)	

Anexo 4 (continuação VIII): Principais alterações detectadas nos exames complementares de diagnóstico realizados durante o período de hospitalização

N.º Caso Clínico	Exames Complementares	Momento da Realização	Principais Alterações	Valores de Referência
15	Análises bioquímicas (I-STAT CÃO)	4º dia internamento	Na ⁺ = 126	150 - 165 mmol/L
			K ⁺ = 5	3,4 - 4,9 mmol/L
			Cl ⁻ = 100	106 - 127 mmol/L
			Hematócrito = 29	35 - 50%
			pH = 7,287	7,35 - 7,45
			Hemoglobina = 9,9	12 - 17 g/dL
	Hemograma	5º dia internamento	Eritrócitos = 4,3	5,5 - 8,5x10 ¹² /L
			Hematócrito = 28,2	37 - 55%
			Hemoglobina = 9,8	12 - 28 g/dL
			Neutrófilos = 14,56	2 - 12x10 ⁹ /L
			Eosinófilos = 0,05	0,10 - 1,49x10 ⁹ /L
	Análises bioquímicas (I-STAT CÃO)	5º dia internamento	Na ⁺ = 133	150 - 165 mmol/L
			Hematócrito = 27	35 - 50%
			pH = 7,182	7,35 - 7,45
			Hemoglobina = 9,2	12 - 17 g/dL
	Análises bioquímicas	5º dia internamento	Albumina = 1,7	2 - 3 g/dL
			Proteínas totais = 4,9	6 - 8 g/dL
	Ecografia abdominal	5º dia internamento	Presença de grande quantidade de líquido livre ecogénico no abdómen médio e caudal	
	Albumina	7º dia internamento	Sem alterações	

Anexo 4 (continuação IX): Principais alterações detectadas nos exames complementares de diagnóstico realizados durante o período de hospitalização

N.º Caso Clínico	Exames Complementares	Momento da Realização	Principais Alterações	Valores de Referência
15	Análises bioquímicas (I-STAT CÃO)	7º dia internamento	Na ⁺ = 128	150 - 165 mmol/L
			K ⁺ = 2,6	3,4 - 4,9 mmol/L
			Cl ⁻ = 96	106 - 127 mmol/L
			Ureia = 6	10 - 26 mg/dL
			Glucose = 239	60 - 115 mg/dL
			Hematócrito = 30	35 - 50%
			PCO ₂ = 28	35 - 38 mmHg
			HCO ₃ = 9	15 - 23 mmol/L
			Hemoglobina = 10,2	12 - 17 g/dL
16	Análises bioquímicas	1º dia internamento	Ureia = 175	6 - 25 mg/dL
			Creatinina = 9,4	< 2 mg/dL
			Fósforo = 10,4	2,5 - 5,6 mg/dL
	Pressão arterial	1º dia internamento	PAS = 227	110 - 120 mmHg
	Análises bioquímicas	3º dia internamento	Ureia = 141	6 - 25 mg/dL
			Creatinina = 8,9	< 2 mg/dL
	Análises bioquímicas	5º dia internamento	Ureia = 130	6 - 25 mg/dL
			Creatinina = 7	< 2 mg/dL
17	Análises bioquímicas (I-STAT CÃO)	1º dia internamento	Na ⁺ = 141	150 - 165 mmol/L
			Glucose = 229	60 - 115 mg/dL
			Hematócrito = 54	35 - 50%
			pH = 7,268	7,35 - 7,45
	Análises bioquímicas	1º dia internamento	ALT = 360	< 120 UI/L
	Radiografia abdominal	1º dia internamento	Sem alterações evidentes	
	Ecografia abdominal	1º dia internamento	Sem alterações relevantes	
	Ecografia abdominal	3º dia internamento	Sem alterações relevantes	

Anexo 4 (continuação X): Principais alterações detectadas nos exames complementares de diagnóstico realizados durante o período de hospitalização

N.º Caso Clínico	Exames Complementares	Momento da Realização	Principais Alterações	Valores de Referência
18	Análises bioquímicas (Painel V)	1º dia internamento	Glucose = 175	40 - 150 mg/dL
			FA = 182	< 147 UI/L
	Ecografia abdominal	2º dia internamento	Vesícula biliar com sombra acústica (suspeita de cálculos ou de bilis concretizada)	
			Hepatomegália	
			Massa adrenal direita com aproximadamente 8 cm de largura, invadindo o córtex adrenal e a veia cava (pressão exercida com a sonda desencadeou convulsão)	
	Pressão arterial	2º dia internamento	PAS = 181	110 - 120 mmHg
	Pressão arterial	3º dia internamento	PAS = 121 (1ª medição); 152 (2ª medição)	110 - 120 mmHg
			PAD = 63 (1ª medição); 68 (2ª medição)	70 - 80 mmHg
	Glicémia	3º dia internamento	Sem alteração	
19	Hemograma	1º dia internamento	PAS = 204	110 - 120 mmHg
			PAD = 156	70 - 80 mmHg
			Eritrócitos = 4,8	5,50 - 8,50x10 ¹² /L
			Hematócrito = 33,2	37 - 55%
			Hemoglobina = 11,3	12 - 18 g/dL
			Leucócitos = 29,59	5.50 - 16.90x10 ⁹ /L
			Neutrófilos = 25,15	2 - 12x10 ⁹ /L
			Monócitos = 2,84	0,30 - 2x10 ⁹ /L
			Plaquetas = 146	175 - 500x10 ⁹ /L
	Análises bioquímicas	1º dia internamento	Sem alterações	

Anexo 4 (continuação XI): Principais alterações detectadas nos exames complementares de diagnóstico realizados durante o período de hospitalização

N.º Caso Clínico	Exames Complementares	Momento da Realização	Principais Alterações	Valores de Referência
19	Ecografia abdominal	1º dia internamento	Testículo direito com parênquima grosseiro (suspeita de orquite)	
			Ligeira hepatomegália com manutenção da ecogenicidade	
			Rins ligeiramente hiperecogénicos com mineralização dos divertículos/hiperecogenicidade da parede dos vasos interlobares	
			Aorta e veia cava engurgitadas	
			Linfonodo ilíaco medial homogéneo mas aumentado	
	Análise de urina tipo II (colheita por cistocentese)	1º dia internamento	Depósito: presente	
			Proteínas = 5 (3+)	
			Sangue = 250 (4+)	eritrócitos
			Eritrócitos = 20	< 5/campo (400)
	Urocultura	2º dia internamento	Negativa	
	Zaragatoa nasal e citologia	2º dia internamento	Negativa	
	Hemocultura	2º dia internamento	Microorganismos aeróbios (cultura estéril)	
	Análises bioquímicas (I-STAT CÃO)	3º dia internamento	TCO ₂ = 11	17 - 25 mmol/L
			Glucose = 127	60 - 115 mg/dL
			Hematócrito = 26	35 - 50%
			pH = 7,278	7,35 - 7,45
			PCO ₂ = 23,1	35 - 38 mmHg
			HCO ₃ = 10,8	15 - 23 mmol/L
			Hemoglobina = 8,5	12 - 17 g/dL
	Punção de medula óssea	4º dia internamento	Hiperplasia mielóide	
20	Hemograma	1º dia internamento	Sem alterações	

Anexo 4 (continuação XII): Principais alterações detectadas nos exames complementares de diagnóstico realizados durante o período de hospitalização

N.º Caso Clínico	Exames Complementares	Momento da Realização	Principais Alterações	Valores de Referência
21	Radiografia abdominal	1º dia internamento	Espessamento da mucosa intestinal	
			Estômago cheio de alimento	
			Intestino com algum gás	
	Albumina	2º dia internamento	Albumina = 1,3	2 - 3 g/dL
	Ecografia abdominal	3º dia internamento	Vestígios de líquido livre entre os recessos hepáticos	
			Hepatomegália com hiperecogenicidade (corticoterapia?)	
			Estômago e intestino moderadamente espessados	
			Vesícula biliar com imagem de bÍlis concretizada	
22	Hemograma	1º dia internamento	Sem alterações	
	Análises bioquímicas (Painel V)	1º dia internamento	Sem alterações	
	Ecografia abdominal	2º dia internamento	Estômago e intestino delgado com hipomotilidade e ligeiramente espessados	
			Cólon distendido com hipermotilidade	
			Linfonodos mesentéricos reactivos	
			Rins com perda de distinção corticomedular	
23	Hemograma	1º dia internamento	Eritrócitos = 5,3	5,5 - 8,5x10 ¹² /L
			Leucócitos = 49,57	5,50 - 16,90x10 ⁹ /L
			Neutrófilos = 17,46	2 - 12x10 ⁹ /L
			Linfócitos = 29,25	0,5 - 4,90x10 ⁹ /L
			Monócitos = 2,44	0,30 - 2x10 ⁹ /L
			Plaquetas = 102	175 - 500x10 ⁹ /L
	Análises bioquímicas (Painel V)	1º dia internamento	Ureia = 197	6 - 25 mg/dL
			ALT = 280	< 120 UI/L
			Creatinina = 5	< 2 mg/dL

Anexo 4 (continuação XIII): Principais alterações detectadas nos exames complementares de diagnóstico realizados durante o período de hospitalização

N.º Caso Clínico	Exames Complementares	Momento da Realização	Principais Alterações	Valores de Referência
23	Ecografia abdominal	1º dia internamento	Fígado hiperecogénico com ecotextura de padrão miliar	
			Baço com 2 nódulos hipoeecogénicos	
			Rim esquerdo com má diferenciação corticomedular	
			Rim direito atrofiado com dilatação da pélvis	
			Bexiga com muito sedimento em suspensão	
			Útero distendido com conteúdo anecóico	
			Adrenais aumentadas	
			Veia cava distendida com material ecóico em suspensão (artefacto?)	
	Análise de urina tipo II (colheita por cistocentese)	1º dia internamento	Aspecto: opaco	
			Depósito: muito abundante	
			Proteínas = 1 (2+)	
			Leucócitos = 300	< 5/campo (400)
			Observações: bacilos (4+)	
	Urocultura e TSA	2º dia internamento	Leucócitos: abundantes	
			Colónias: > 10 ⁵	
			Cultura: Isolou-se Escherichia coli	
	Análises bioquímicas	4º dia internamento	Ureia = 99	6 - 25 mg/dL
			Creatinina = 3,6	< 2 mg/dL
24	Hemograma	1º dia internamento	Monócitos = 2,58	0,30 - 2x10 ⁹ /L
			Plaquetas = 163	175 - 500x10 ⁹ /L
	Análises bioquímicas	1º dia internamento	Ureia = 97	6 - 25 mg/dL
			Creatinina = 5,5	< 2 mg/dL
			Proteínas totais = 10,2	6 - 8 g/dL
	Ecografia abdominal	1º dia internamento	Piόμεtra exuberante	

Anexo 4 (continuação XIV): Principais alterações detectadas nos exames complementares de diagnóstico realizados durante o período de hospitalização

N.º Caso Clínico	Exames Complementares	Momento da Realização	Principais Alterações	Valores de Referência
25	Hemograma	1º dia internamento	Neutrófilos = 13,07	2 - 12x10 ⁹ /L
			Plaquetas = 70	175 - 500x10 ⁹ /L
	Análises bioquímicas (I-STAT CÃO)	1º dia internamento	Na ⁺ = 130	150 - 165 mmol/L
			Ureia = > 140	10 - 26 mg/dL
			Glucose = 139	60 - 115 mg/dL
	Análises bioquímicas	1º dia internamento	Ureia = 171	6 - 25 mg/dL
			Creatinina = 7,3	< 2 mg/dL
			ALT = 223	< 120 UI/L
			FA = 406	< 147 UI/L
			Bilirrubina total = 3,3	<0,2 mg/dL
	Ecografia abdominal	1º dia internamento	Fígado hipoeecogénico e aumentado	
			Vesícula biliar distendida e com ecos em suspensão	
			Rins aumentados com perda de diferenciação	
			Mesentério ecogénico	
			Linfonodos mesentéricos reactivos e aumentados	
			Bexiga muito distendida	
			Estômago espessado sem sinais de úlceras	
			Cólon com fezes líquidas	
	Análises bioquímicas	3º dia internamento	Ureia = 79	6 - 25 mg/dL
			Creatinina = 2,9	< 2 mg/dL
			FA = 636	< 147 UI/L
			Bilirrubina total = 10,6	<0,2 mg/dL

Anexo 5: Protocolos terapêuticos instituídos durante o período de hospitalização

N.º Caso Clínico	Fluidoterapia	Taxa de infusão	Substância activa	Dose	Via	Frequência	Duração da Terapêutica (dias)	Período de administração
1	Lactato de Ringer (LR)	11 ml/hora	Amoxicilina + Ácido clavulânico	0,3 ml	SC	SID	3	Durante todo o internamento
			Metronidazol	12 ml	IV	BID	3	Durante todo o internamento
			Meloxicam	0,24 ml	SC	SID	3	Durante todo o internamento
			Tramadol	0,36 ml	SC	TID	3	Durante todo o internamento
2	Soro fisiológico (NaCl 0,9%)	22 ml/hora	Tramadol	0,4 ml	SC	TID	2	Durante todo o internamento
			Ranitidina	0,5 ml	SC	BID	2	Durante todo o internamento
			Prednisolona	15 mg	IV	BID	1	1º dia de internamento
			Manitol	30 ml	IV	BID	1	1º dia de internamento
3	LR	9 ml/hora	Cefalexina	0,28 ml	SC	BID	2	Durante todo o internamento
			Metronidazol	10 ml	IV	BID	2	Durante todo o internamento
			Ácido tolfenâmico	0,5 ml	SC	SID	2	Durante todo o internamento
4	NaCl 0,9%	14 ml/hora	Enrofloxacina	0,5 ml	SC	SID	8	1ºs 8 dias de internamento
			Ceftriaxona	150 mg	IV	TID	3	Do 6º ao 8º dia de internamento
			Amoxicilina + Ácido clavulânico	0,25 ml	SC	SID	2	Do 7º ao 9º dia de internamento
			Ácido tolfenâmico	0,5 ml	SC	SID	6	1ºs 6 dias de internamento
			Tramadol	0,3 ml	SC	BID	6	Do 3º ao 8º dia de internamento
5	LR	9 ml/hora	Ceftriaxona	140 mg	IV	BID	2	Durante todo o internamento
			Metronidazol	9 ml	IV	BID	2	Durante todo o internamento
			Ácido tolfenâmico	0,5 ml	SC	SID	2	Durante todo o internamento
			Tramadol	0,3 ml	SC	BID	2	Durante todo o internamento
			Ranitidina	0,2 ml	SC	BID	2	Durante todo o internamento
6	NaCl 0,9%	20 ml/hora	Amoxicilina + Ácido clavulânico	0,3 ml	SC	SID	3	Durante todo o internamento
			Ácido tolfenâmico	0,6 ml	SC	SID	3	Durante todo o internamento
			Ranitidina	0,3 ml	SC	BID	3	Durante todo o internamento
			Metoclopramida	0,6 ml	SC	BID	3	Durante todo o internamento

Anexo 5 (continuação I): Protocolos terapêuticos instituídos durante o período de hospitalização

N.º Caso Clínico	Fluidoterapia	Taxa de infusão	Susbtância activa	Dose	Via	Frequência	Duração da Terapêutica (dias)	Período de administração
7	LR	10,5 ml/hora	Amoxicilina + Ácido clavulânico	0,15 ml	SC	SID	5	Durante todo o internamento
			Enrofloxacina	0,31 ml	SC	SID	5	Durante todo o internamento
			Ranitidina	0,2 ml	SC	BID	5	Durante todo o internamento
			Metoclopramida	0,31 ml	SC	BID	5	Durante todo o internamento
8	Sterovet com 20 mEq KCL	60 ml/hora	Metronidazol	44 ml	IV	BID	4	Durante todo o internamento
			Enrofloxacina	2 ml	SC	SID	4	Durante todo o internamento
			Maropitant	2 ml	SC	SID	1	1º dia de internamento
			Metoclopramida	2 ml	SC	BID	3	Do 2º ao 4º dia de internamento
			Ranitidina	1,8 ml	SC	BID	4	Durante todo o internamento
			Tramadol	1,38 ml	SC	BID	3	Do 2º ao 4º dia de internamento
9	LR com 20 ml Duphalyte	12 ml/hora	Amoxicilina + Ácido clavulânico	0,2 ml	SC	SID	3	Do 1º ao 3º dia de internamento
			Metronidazol	9 ml	IV	BID	5	Durante todo o internamento
			Ceftriaxona	140 mg	IV	BID	3	Do 3º ao 5º dia de internamento
			Infermun®	0,5 ml	SC		2	No 1º e 3º dias de internamento
			Ácido tolfenâmico	0,45 ml	SC	SID	2	Do 2º ao 3º dia de internamento
			Metoclopramida	0,45 ml	SC	BID	4	Do 2º ao 5º dia de internamento
10	LR	60 ml/hora	Ampicilina	440 mg	IV	TID	3	Durante todo o internamento
			Meloxicam	0,88 ml	SC	SID	1	No 1º dia de internamento
			Tramadol	1,3 ml	SC	BID	3	Durante todo o internamento
			Omeprazol	20 mg	PO	SID	1	No 1º dia de internamento
			Ranitidina	1,6 ml	SC	BID	3	Durante todo o internamento
			Prednisolona	40 mg	IV	BID	3	Durante todo o internamento

Anexo 5 (continuação II): Protocolos terapêuticos instituídos durante o período de hospitalização

N.º Caso Clínico	Fluidoterapia	Taxa de infusão	Susbtância activa	Dose	Via	Frequência	Duração da Terapêutica (dias)	Período de administração
11	LR	20 ml/hora	Ampicilina	121 mg	IV	TID	3	Durante todo o internamento
			Metronidazol	11 ml	IV	BID	3	Durante todo o internamento
			Ranitidina	0,5 ml	SC	BID	3	Durante todo o internamento
			Metoclopramida	0,6 ml	SC	BID	3	Durante todo o internamento
			Tramadol	0,3 ml	SC	BID	3	Durante todo o internamento
12	LR	14 ml/hora	Metoclopramida	0,24 ml	SC	TID	5	Durante todo o internamento
			Ranitidina	0,2 ml	SC	BID	5	Durante todo o internamento
			Famotidina	5 mg	PO	BID	1	No 1º dia de internamento
			Amlodipina	1,25 mg	PO	SID	5	Durante todo o internamento
			Benazepril	2,5 mg	PO	SID	4	Do 2º ao 5º dia de internamento
			Renalzin® (Carbonato de lantânio)	4 ml	PO	SID	5	Durante todo o internamento
13	NaCl 0,9%	90 ml/hora	Metronidazol	40 ml	IV	BID	2	Durante todo o internamento
			Ampicilina	400 mg	IV	BID	2	Durante todo o internamento
			Metoclopramida	2 ml	SC	BID	2	Durante todo o internamento
			Ranitidina	1,8 ml	SC	BID	2	Durante todo o internamento
			Tramadol	1,2 ml	SC	BID	2	Durante todo o internamento
14	LR	12 ml/hora	Amoxicilina + Ácido clavulânico	0,13 ml	SC	SID	4	Durante todo o internamento
			Metoclopramida	0,25 ml	SC	BID	4	Durante todo o internamento
			Ranitidina	0,1 ml	SC	BID	4	Durante todo o internamento
			Infermun®	0,5 ml	SC		2	No 1º e 3º dia de internamento
			Ácido tolfenâmico	0,25 ml	SC	SID	3	Do 2º ao 4º dia de internamento

Anexo 5 (continuação III): Protocolos terapêuticos instituídos durante o período de hospitalização

N.º Caso Clínico	Fluidoterapia	Taxa de infusão	Susbtância activa	Dose	Via	Frequência	Duração da Terapêutica (dias)	Período de administração
15	NaCl 0,9% (1ºs 6 dias)	40 ml/hora	Ceftriaxona	870 mg	IV	TID	7	Do 2º ao 8º dia de internamento
			Metronidazol	60 ml	IV	BID	7	Do 2º ao 8º dia de internamento
			Ranitidina	2,39 ml	SC	BID	8	Durante todo o internamento
			Omeprazol	25 mg	IV	SID	5	Do 4º ao 8º dia de internamento
	LR (2 últimos dias)	40 ml/hora	Metoclopramida	2,9 ml	SC	TID	6	Do 3º ao 8º dia de internamento
			Maropitant	2,9 ml	SC	SID	2	Do 7º ao 8º dia de internamento
	Glucose a 30% (4º, 5º e 6º dias)	80 ml	Tramadol	1,74 ml	SC	TID	6	Do 1º ao 6º dia de internamento
			Tramadol	1,74 ml	IM	TID	2	Do 7º ao 8º dia de internamento
	KCl (2 últimos dias)	60 mEq	Prednisolona	5 mg	PO	SID	4	Do 1º ao 4º dia de internamento
			Prednisolona	5 mg	IV	BID	2	Do 5º ao 6º dia de internamento
			Hidrocortisona	150 mg	IV	TID	2	Do 7º ao 8º dia de internamento
			Fludrocortisona	0,2 mg	PO	BID	3	Do 1º ao 3º dia de internamento
16	NaCl 0,9%	34 ml/hora	Fludrocortisona	0,4 mg	PO	BID	5	Do 4º ao 8º dia de internamento
			Ranitidina	0,9 ml	SC	BID	5	Durante todo o internamento
			Metoclopramida	1,1 ml	SC	BID	5	Durante todo o internamento
			Benazepril	5 mg	PO	BID	5	Durante todo o internamento
			Atenolol	25 mg	PO	BID	1	No 1º dia de internamento
17	LR	25 ml/hora	Amlodipina	1,25 mg	PO	BID	4	Do 2º ao 5º dia de internamento
			Ranitidina	0,56 ml	SC	TID	3	Durante todo o internamento
			Metronidazol	15 ml	IV	BID	3	Durante todo o internamento
			Amoxicilina + Ácido clavulânico	0,4 ml	SC	SID	3	Durante todo o internamento
			Morfina	0,21 ml	IM	SID	1	No 1º dia de internamento
			Tramadol	0,5 ml	SC	BID	2	Do 2º ao 3º dia de internamento
17	LR	25 ml/hora	Ácido tolfenâmico	0,75 ml	SC	SID	2	Do 2º ao 3º dia de internamento

Anexo 5 (continuação IV): Protocolos terapêuticos instituídos durante o período de hospitalização

N.º Caso Clínico	Fluidoterapia	Taxa de infusão	Susbtância activa	Dose	Via	Frequência	Duração da Terapêutica (dias)	Período de administração
18	LR	22 ml/hora	Diazepam (em caso de convulsão)	1 ml	IV		5	Do 1º ao 5º dia de internamento
			Fenobarbital	30 mg	IV	BID	1	No 2º dia de internamento
			Fenobarbital	30 mg	IM	BID	7	Do 2º ao 8º dia de internamento
			Benazepril	10 mg	PO	SID	7	Do 2º ao 8º dia de internamento
			Meloxicam	0,6 ml	SC	SID	7	Do 2º ao 8º dia de internamento
			Tramadol	0,9 ml	SC	BID	6	Do 3º ao 8º dia de internamento
			Enrofloxacin	1,5 ml	SC	SID	1	No 3º dia de internamento
19	NaCl 0,9%	96 ml/hora	Metronidazol	71 ml	IV	BID	5	Durante todo o internamento
			Ceftriaxona	1058 mg	IV	BID	5	Durante todo o internamento
			Prednisolona	25 mg	IV	SID	1	No 1º dia de internamento
			Prednisolona	70 mg	IV	BID	3	Do 3º ao 5º dia de internamento
			Alopurinol	1050 mg	PO	SID	3	Do 3º ao 5º dia de internamento
			Tetraciclina colírio	1 gota nos 2 olhos	Ocular	BID	1	No 2º dia de internamento
			Flurbiprofeno colírio	1 gota nos 2 olhos	Ocular	BID	1	No 2º dia de internamento
			Tobramicina colírio	1 gota nos 2 olhos	Ocular	BID	3	Do 3º ao 5º dia de internamento
			Prednisolona colírio	1 gota nos 2 olhos	Ocular	BID	3	Do 3º ao 5º dia de internamento
			Metoclopramida	3,5 ml	SC	BID	3	Do 3º ao 5º dia de internamento
			Tramadol	2,1 ml	SC	TID	3	Do 3º ao 5º dia de internamento
20	LR	7 ml/hora	Metronidazol	7 ml	IV	BID	3	Durante todo o internamento
			Ceftriaxona	100 mg	IV	BID	3	Durante todo o internamento
			Ácido tolfenâmico	0,3 ml	SC	SID	3	Durante todo o internamento
			Tramadol	0,2 ml	SC	BID	2	Do 2º ao 3º dia de internamento

Anexo 5 (continuação V): Protocolos terapêuticos instituídos durante o período de hospitalização

N.º Caso Clínico	Fluidoterapia	Taxa de infusão	Susbtância activa	Dose	Via	Frequência	Duração da Terapêutica (dias)	Período de administração
21	LR Duphalyte	20 ml/hora	Metronidazol	10 ml	IV	BID	4	Durante todo o internamento
			Prednisolona	5 mg	PO	BID	4	Durante todo o internamento
		10 ml	Metoclopramida	0,5 ml	SC	BID	4	Durante todo o internamento
			Omeprazol	3,5 mg	IV	SID	3	Do 2º ao 4º dia de internamento
22	LR	15 ml/hora	Maropitant	0,49 ml	SC	SID	1	No 1º dia de internamento
			Metoclopramida	0,4 ml	SC	BID	2	Do 2º ao 3º dia de internamento
			Ranitidina	0,4 ml	SC	BID	3	Durante todo o internamento
			Metronidazol	10 ml	IV	BID	3	Durante todo o internamento
			Ampicilina	100 mg	IV	TID	3	Durante todo o internamento
			Tramadol	0,3 ml	SC	BID	1	No 1º dia de internamento
			Ácido tolfenâmico	0,5 ml	SC	SID	2	Do 2º ao 3º dia de internamento
23	LR	20 ml/hora	Ranitidina	0,4 ml	SC	BID	4	Durante todo o internamento
			Ceftriaxona	146 mg	IV	TID	4	Durante todo o internamento
			Enrofloxacina	0,3 ml	SC	SID	3	Do 2º ao 4º dia de internamento
			Tramadol	0,3 ml	SC	BID	4	Durante todo o internamento
24	LR	30 ml/hora	Ceftriaxona	300 mg	IV	BID	3	Durante todo o internamento
			Metronidazol	20 ml	IV	BID	3	Durante todo o internamento
			Metoclopramida	1 ml	SC	BID	3	Durante todo o internamento
			Ranitidina	0,8 ml	SC	BID	3	Durante todo o internamento
			Ácido tolfenâmico	1 ml	SC	BID	3	Durante todo o internamento
			Tramadol	0,6 ml	SC	BID	3	Durante todo o internamento

Anexo 5 (continuação VI): Protocolos terapêuticos instituídos durante o período de hospitalização

N.º Caso Clínico	Fluidoterapia	Taxa de infusão	Susbtância activa	Dose	Via	Frequência	Duração da Terapêutica (dias)	Período de administração
25	LR	60 ml/hora	Amoxicilina + Ácido clavulânico	1 ml	SC	SID	2	Do 1º ao 2º dia de internamento
			Ampicilina	440 mg	IV	TID	2	Do 3º ao 4º dia de internamento
			Metronidazol	40 ml	IV	BID	4	Durante todo o internamento
			Ranitidina	1,6 ml	SC	BID	1	No 1º dia de internamento
			Omeprazol	12 mg	IV	SID	3	Do 2º ao 4º dia de internamento
			Ácido ursodeoxicólico	300 mg	PO	SID	3	Do 2º ao 4º dia de internamento
			Tramadol	1,2 ml	SC	BID	4	Durante todo o internamento

Anexo 6: Cirurgias realizadas durante o período de hospitalização e respectivas pré-medicações

N.º Caso Clínico	Tipo de Cirurgia	Momento da Realização	Pré-medicação	Dose/Via
1	Osteossíntese de fracturas nasal, maxilar e palato direitos	1º dia de internamento	Diazepam	0,5 ml/IV
			Acepromazina	0,1 ml/IV
			Morfina	0,1 ml/IM
			Fentanil	0,5 ml/IV
2	Não fez			
3	Não fez			
4	Cistotomia (com remoção de cálculos vesicais de oxalato de cálcio e omentalização da sutura)	2º dia de internamento	Midazolam	0,25 ml/IV
			Butorfanol	0,1 ml/SC
	Laparotomia exploratória: presença de líquido livre (uroabdómen); bexiga dilatada, inexpressável, porosa com fuga de urina em toalha e com lesões necróticas/hemorragicas	4º dia de internamento	Midazolam	0,25 ml/IV
	Colocação de catéter de rusch com balão insuflado e sutura em bolsa de tabaco na bexiga e na pele e omentalização total da bexiga até à uretra pélvica.		Fentanil	0,5 ml/IV
5	Não fez			
6	Não fez			
7	Não fez			
8	Enterotomia com remoção de corpo estranho	2º dia de internamento	Informação não disponível	
9	Não fez			
10	Não fez			
11	Não fez			
12	Não fez			
13	Não fez			
14	Não fez			
15	Laparotomia exploratória: presença de úlcera duodenal perfurada, pancreatite e peritonite séptica generalizada; ausência de corpo estranho	3º dia de internamento	Morfina	0,9 ml/SC
			Xilazina	40mg/IV
16	Não fez			
17	Não fez			
18	Não fez			

Anexo 6: Cirurgias realizadas durante o período de hospitalização e respectivas pré-medicação

N.º Caso Clínico	Tipo de Cirurgia	Momento da Realização	Pré-medicação	Dose/Via
19	Não fez			
20	Não fez			
21	Não fez			
22	Não fez			
23	Não fez			
24	OVH por piómetra aberta	1º dia de internamento	Diazepam	1 ml/IV
			Butorfanol	0,2ml/IV
25	Não fez			