

Correlação entre Concentração Liquórica e Efeitos Colaterais após Injeção de Morfina por Via Subaracnóidea em Ratos *

Correlation between CSF Concentration and Side Effects after Spinal Morphine Injection in Rats

Neuzimar de Souza Freire Silva¹; Rioko Kimiko Sakata, TSA²; Adriana Machado Issy²

RESUMO

Silva NSF, Sakata RK, Issy AM - Correlação entre Concentração Liquórica e Efeitos Colaterais após Injeção de Morfina por Via Subaracnóidea em Ratos

JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS: A morfina por via subaracnóidea promove bom efeito analgésico, mas não é isenta de efeito colateral. O objetivo deste estudo foi verificar se há correlação entre a concentração de morfina no líquor e os efeitos colaterais após injeção de morfina por via subaracnóidea.

MÉTODO: Foram estudados 28 ratos, em quatro grupos, 24 horas após a colocação de cateter subaracnóideo via cisterna magna. Os grupos G1, G2, G3 e G4 receberam respectivamente 0,1; 0,3; 0,5 e 1 µg de morfina em 10 µl de solução fisiológica a 0,9%. Foram coletadas amostras de líquor e anotados os efeitos colaterais nos momentos M₁₅, M₃₀, M₆₀, M₁₂₀ e M₁₈₀ minutos após a injeção.

RESULTADOS: Os efeitos colaterais observados foram tremor mandibular, agitação, prurido, ausência de diurese, sedação e alteração respiratória. Houve maior incidência de efeitos colaterais nas avaliações precoces, diminuindo progressivamente com o tempo. As concentrações médias de morfina no líquor no G1 variou de 72,84 a 1,13 pg; no G2, de 114,26 a 5,68 pg; no G3, de 151,18 a 13,62 pg; e no G4, de 561,37 a 18,61 pg.

CONCLUSÕES: Não houve correlação entre concentração de morfina no líquor e efeitos colaterais.

Unitermos: ANALGÉSICOS, Opióides: morfina; ANIMAL: rato; TÉCNICAS ANESTÉSICAS, Regional: subaracnóidea

SUMMARY

Silva NSF, Sakata RK, Issy AM - Correlation between CSF Concentration and Side Effects after Spinal Morphine Injection in Rats

BACKGROUND AND OBJECTIVES: Spinal morphine promotes good pain relief, but is not free from side effects. This study aimed at verifying the correlation between CSF morphine concentration and side effects.

METHODS: This study involved 4 groups of 7 rats, which were studied 24 hours after spinal catheter insertion via cisterna magna. Groups G1, G2, G3 and G4 received respectively 0.1; 0.3; 0.5 and 1 µg morphine in 10 µl of 0.9% saline solution. CSF samples were collected and side effects were recorded at M₁₅, M₃₀, M₆₀, M₁₂₀ and M₁₈₀ minutes after injection.

RESULTS: Side effects observed were: mandible tremors, agitation, pruritus, absence of diuresis, sedation, and respiratory changes. The incidence of side effects was higher during early evaluations and progressively decreased with time. Mean CSF morphine concentrations in G1 varied from 72.84 to 1.13 pg; in G2 from 114.26 to 5.68 pg; in G3 from 151.18 to 13.62 pg and in G4, from 561.37 to 18.61 pg.

CONCLUSIONS: There has been no correlation between CSF morphine concentration and side effects.

Key Words: ANALGESICS, Opioids: morphine, ANESTHETIC TECHNIQUES, Regional: spinal block; ANIMAL: rat

INTRODUÇÃO

A morfina foi um dos primeiros opióides a ser utilizado para analgesia pós-operatória e para o controle da dor crônica. É um opióide com baixa solubilidade lipídica, afini-

dade moderada pelo receptor, eficácia moderada, baixa velocidade de dissociação do receptor e duração prolongada.

A descoberta de receptores opióides em 1974¹ e a identificação de opióide endógeno em 1975² foi um avanço no tratamento da dor. A morfina por via espinal, por sua baixa lipossolubilidade, apresenta grande período de latência e duração prolongada. Quando utilizada no espaço subaracnóideo, a morfina tem dispersão no sentido cranial, podendo provocar efeitos colaterais como prurido, náusea, vômito e insuficiência respiratória, sendo este último o mais temido por sua manifestação tardia.

Não foi encontrado, na literatura pesquisada, relato de correlação entre a concentração de morfina no líquor e efeitos colaterais após injeção subaracnóidea. Para tentar verificar se há essa correlação, esta pesquisa foi elaborada dosando a concentração no líquor após injeção de diferentes doses de morfina e observando os efeitos colaterais nos ratos, em diferentes momentos.

* Recebido da (Received from) Disciplina de Anestesiologia, Dor e Terapia Intensiva da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP

1. Pós-Graduando da Disciplina de Anestesiologia, Dor e Terapia Intensiva da UNIFESP
2. Professora Adjunta de Anestesiologia da UNIFESP

Apresentado (Submitted) em 04 de fevereiro de 2003
Aceito (Accepted) para publicação em 06 de maio de 2003

Endereço para correspondência (Correspondence to)
Dra. Rioko Kimiko Sakata
Rua Três de Maio 61/51 Vila Clementino
04044-020 São Paulo, SP

© Sociedade Brasileira de Anestesiologia, 2004

MÉTODO

Este estudo experimental foi realizado após ter sido aprovado pelos Comitês de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo e da Universidade Federal do Amazonas. Foram investigados 28 ratos da linhagem Wistar, machos, saudáveis, com idade aproximada de 90 dias e peso entre 250 e 300 gramas. Foram excluídos do protocolo, ratos com paralisia ou flacidez das patas. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais, recebendo 12 horas de luz por dia, água e ração à vontade durante todo o experimento.

Os animais foram distribuídos em 4 grupos de 7 e todos receberam 10 µl de solução fisiológica por via subaracnóidea: os do G1, 0,1 µg de morfina; os do G2, 0,3 µg de morfina; os do G3, 0,5 µg de morfina; e os do G4, 1 µg de morfina.

A morfina foi preparada, através da diluição de 1 mg do sal de sulfato de morfina em 1 ml de solução fisiológica a 0,9% (1 mg/ml). As demais (0,1; 0,3; 0,5; e 1 µg de morfina em 10 µl) foram preparadas por diluição com solução fisiológica a 0,9% e mantidas à temperatura de 4 °C até a análise. Para a solução de 0,1 µg/10 µl, foram retirados 50 µl da solução estoque e adicionados 4950 µl de solução fisiológica 0,9%. Para a solução de 0,3 µg/10 µl, foram retirados 100 µl da solução estoque e adicionados 3000 µl de solução fisiológica a 0,9%. Para a solução de 0,5 µg/10 µl, foram retirados 100 µl da solução estoque e adicionados 2000 µl de solução fisiológica a 0,9% e para solução de 1 µg/10 µl, foram retirados 500 µl da solução estoque e adicionados 4500 µl de solução fisiológica a 0,9%.

Para colocação de cateter subaracnóideo, os animais foram submetidos à anestesia geral com cetamina (60 µg/g) e xilazina (16 µg/g) por via muscular. A colocação do cateter subaracnóideo foi realizada pela técnica de Yaksh, Rudy³, modificada; com introdução do cateter na parte mais lateral, para facilitar a administração da droga e a coleta de líquido. O cateter alcançou o espaço subaracnóideo da região torácica alta, aproximadamente ao nível de T₃-T₄. A extremidade livre do cateter foi fechada com um pequeno estilete metálico.

Os animais foram mantidos em gaiolas individuais para recuperação anestésica e os com deficiência neurológica, foram excluídos do estudo.

Foram administradas diferentes concentrações de morfina de maneira aleatória nos animais, 24 horas após a colocação do cateter no espaço subaracnóideo. Todos os animais que participaram do estudo estavam ativos, movimentando-se, recebendo ração e água livres, e totalmente recuperados da anestesia.

A injeção pelo cateter foi efetuada com seringa de Hamilton de 10 µl, graduada de 1 em 1 µl, em uma velocidade de 5 µl por segundo.

Foram realizadas coletas de 0,2 ml de líquido nos momentos: 15 (M₁₅), 30 (M₃₀), 60 (M₆₀), 120 (M₁₂₀) e 180 (M₁₈₀) minutos após a administração da morfina. As amostras foram centrifugadas e armazenadas a -8 °C, sendo utilizado o método de cromatografia líquida de alta eficiência para quantificar a morfina no líquido.

Realizou-se coleta de 0,3 ml de sangue arterial, entre 15 e 30 minutos após a administração da morfina, em um animal de cada grupo.

Foram observados e anotados os possíveis efeitos colaterais e complicações nos momentos: M₀, M₅, M₁₅, M₃₀, M₆₀, M₁₂₀ e M₁₈₀, correlacionando com a concentração líquórica de morfina.

Para análise estatística foram empregados os testes não-paramétricos. Para todos os testes, foi fixado em 0,05 ou 5% (p ≤ 0,05) o nível de rejeição da hipótese de nulidade.

RESULTADOS

Concentração da Morfina no Líquor

As médias das concentrações da morfina no líquido no G1 diminuíram progressivamente e foram significativamente menores que nos demais grupos em M₁₅, M₃₀, M₆₀, e M₁₂₀; no M₁₈₀ a média da concentração de G1 foi semelhante à de G2 e menor que de G3 e G4. No G2 e no G3 ocorreu diminuição seguida de aumento e nova diminuição e no G4 também houve aumento seguido de diminuição (Tabela I e Figura 1).

Tabela I - Valores das Médias das Concentrações (pg/100 µl) de Morfina no Líquor nos Grupos (G1: 0,1 µg; G2: 0,3 µg; G3: 0,5 µg; G4: 1 µg de morfina) em cada Momento Avaliado (M₁₅, M₃₀, M₆₀, M₁₂₀ e M₁₈₀)

Momentos após a administração das soluções (min)	Grupos			
	G1	G2	G3	G4
M ₁₅	72,84	106,64	144,77	179,18
M ₃₀	19,01	96,91	121,47	386,14
M ₆₀	7,38	114,26	151,18	561,37
M ₁₂₀	3,25	37,81	42,52	47,86
M ₁₈₀	1,13	5,68	13,62	18,61

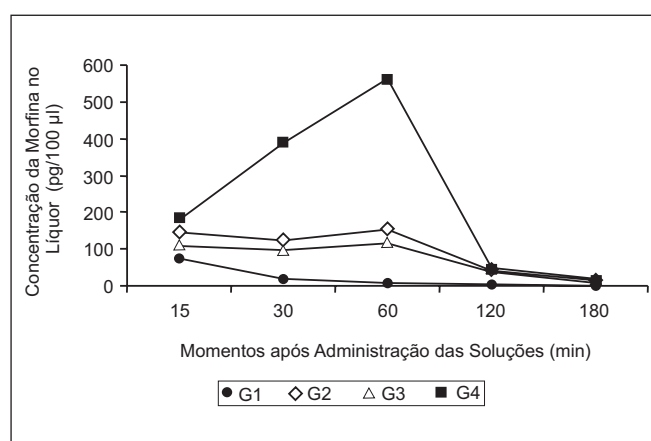


Figura 1 - Valores das Médias das Concentrações (pg/100 µl) de Morfina no Líquor nos Grupos em cada Momento (minutos) após a Administração das Soluções

Correlação entre Concentração Liquórica de Morfina e Efeitos Colaterais

No G1, em M₁₅ (72,84 pg/100 µl) foram observados: tremor mandibular, agitação, prurido, sedação, e alteração respiratória; em M₃₀ (19,01 pg/100 µl), tremor mandibular, prurido, sedação, e alteração respiratória; em M₆₀ (7,38 pg/100 µl), tremor mandibular, prurido, ausência de diurese, sedação, e alteração respiratória. Tanto em M₁₂₀ (3,25 pg/100 µl) como em M₁₈₀ (1,13 pg/100 µl) não ocorreu nenhum efeito.

No G2, em M₁₅ (106,64 pg/100 µl) foram observados: tremor mandibular, agitação, prurido, ausência de diurese, sedação e alteração respiratória; em M₃₀ (96,91 pg/100 µl), agitação, prurido, ausência de diurese, sedação e alteração respiratória; em M₆₀ (114,26 pg/100 µl), prurido, ausência de diurese, sedação, e alteração respiratória; em M₁₂₀ (37,81 pg/100 µl), prurido e ausência de diurese e em M₁₈₀ (5,68 pg/100 µl) não ocorreu nenhum efeito.

No G3, em M₁₅ (144,77 pg/100 µl) foram observados: prurido, sedação e alteração respiratória; em M₃₀ (121,47 pg/100 µl), prurido, sedação e alteração respiratória; em M₆₀ (151,18 pg/100 µl), prurido, ausência de diurese e sedação; em M₁₂₀ (42,57 pg/100 µl), prurido e ausência de diurese e em M₁₈₀ (13,62 pg/100 µl) não ocorreu nenhum efeito.

No G4 em M₁₅ (179,18 pg/100 µl) foram observados: prurido, sedação e alteração respiratória; em M₃₀ (386,14 pg/100 µl), prurido, ausência de diurese, sedação e alteração respiratória; em M₆₀ (561,37 pg/100 µl), prurido, ausência de diurese e sedação; em M₁₂₀ (74,86 pg/100 µl), prurido e sedação e, em M₁₈₀ (18,61 pg/100 µl), não ocorreu nenhum efeito (Tabela II).

Tabela II - Efeitos Colaterais e Médias das Concentrações após a Administração de Morfina Subaracnóidea

Momentos (min)	Grupos	C _{morfina} (pg/100 µl)	Efeitos Colaterais					
			TM	Agit	P	AD	Sed	Alt. Resp
M ₁₅	G1	72,84	x	x	x		x	x
	G2	106,64	x	x	x	x	x	x
	G3	144,27			x		x	x
	G4	179,18			x		x	x
M ₃₀	G1	19,01	x		x		x	x
	G2	96,91		x	x	x	x	x
	G3	121,47			x		x	x
	G4	386,14			x	x	x	x
M ₆₀	G1	7,38	x		x	x	x	x
	G2	114,26			x	x	x	x
	G3	151,18			x	x	x	
	G4	561,37			x	x	x	
M ₁₂₀	G1	3,25						
	G2	37,81			x	x		
	G3	42,52			x	x		
	G4	47,86			x		x	
M ₁₈₀	G1	1,13						
	G2	5,68						
	G3	13,62						
	G4	18,61						

TM: tremor mandibular; Agit: agitação; P: prurido; AD: ausência de diurese; Sed: sedação; Alt. Resp: alteração respiratória, x: presença de efeito

DISCUSSÃO

Para este estudo, foi escolhido o rato Wistar pela facilidade de aquisição, manuseio e manutenção da alimentação e higiene nas gaiolas, além de grande resistência orgânica às infecções e baixo custo. Muitos autores também optaram por ratos para injeção de morfina por via subaracnóidea, pelos motivos descritos³⁻⁵.

Para colocação do cateter, foi utilizada a técnica cirúrgica descrita por Yaksh, Rudy⁵ modificada, por permitir acesso relativamente fácil ao espaço subaracnóideo através da cisterna magna. Também possibilita a manutenção do cateter durante períodos prolongados, porque permite fixação eficaz do mesmo, além de isolá-lo do contato com a boca e as patas do animal, impedindo-o de retirá-lo. Entretanto, se reproduzida fielmente, demanda um tempo muito grande para a colocação do cateter e apresenta um elevado índice de falha para a coleta de líquido.

O experimento foi feito 24 horas após a colocação do cateter para que não houvesse dúvidas sobre a analgesia residual da anestesia e também para que fosse possível avaliar a ausência de lesão neurológica. Não foi feito após tempo maior, porque poderia ocorrer obstrução da ponta de cateter, impedindo a difusão da solução e também a coleta seriada de líquido. Este estudo e os da literatura, foram realizados somente com animais despertos e movimentando-se livremente, sem contenção³⁻⁵.

O opióide escolhido para esta pesquisa foi a morfina, que por ser hidrofílica, possui duração de ação prolongada. Porém, essa característica também é responsável pela permanência do fármaco no líquido durante tempo maior que com opióide lipofílico. Com isso, ocorre maior difusão cranial e ligação do opióide aos receptores encefálicos, provocando efeitos colaterais como prurido, náusea, vômito e depressão respiratória. A presença desses efeitos colaterais limita o uso de opióides por via subaracnóidea.

Não encontramos trabalhos sobre correlação entre concentração de morfina no líquido e os efeitos colaterais investigados. Para verificar se existe essa correlação, foram escolhidas doses de 0,1 a 1 µg; um estudo mostrou que 1 µg de morfina, por via subaracnóidea, produz efeito analgésico e colateral⁶.

Na presente pesquisa, com as doses administradas, a concentração de morfina no líquido foi menor que a concentração mínima de 200 a 400 pg/100 µl, relatada na literatura⁷, atingindo essa concentração somente em M₃₀ e M₆₀ do G4.

Após administração venosa, a morfina é encontrada no soro, no líquido e no encéfalo de ratos, em 5 minutos. No encéfalo, observa-se diminuição da concentração após 30 minutos, mantendo estável até 60 minutos. No líquido, não há modificação da concentração após 30 minutos; entretanto, 60 minutos após a administração venosa ocorre aumento intenso, sugerindo que a morfina poderia estar retida no tecido encefálico. O líquido poderia ser uma importante via de eliminação da morfina do sistema nervoso central, porém não são encontrados seus metabólitos nesse local após administração de dose única⁸.

No presente estudo foram encontradas grandes concentrações de morfina no líquido, aos 15 minutos. Aos 30 e 60 minutos, a alteração da concentração foi diferente nos grupos, ocorrendo aumento ou diminuição. Aos 120 e 180 minutos, ocorreu diminuição da concentração de morfina no líquido em todos os grupos.

Neste estudo, foram encontradas grandes concentrações de morfina, em M₁₅, em todos os grupos, provavelmente porque as amostras de líquido foram coletadas no local da injeção. Em M₃₀ ocorreu redução da concentração de morfina, em três grupos, provavelmente devido à distribuição do fármaco no líquido e para a medula espinhal, para os tecidos adjacentes e para o encéfalo. No G4, houve aumento da concentração provavelmente por difusão da morfina de tecidos para o líquido; também foi observado aumento nos grupos 2, 3 e 4 no M₆₀. No G1, continuou havendo diminuição da concentração, provavelmente porque a dose era pequena e mesmo com difusão do tecido para o líquido o aumento foi menor que a saída da droga do líquido para os tecidos.

Nos momentos M₁₂₀ e M₁₈₀ houve diminuição das concentrações de morfina no líquido, em todos os grupos, provavelmente porque a maior parte já havia sido eliminada; em M₁₈₀ foram detectadas concentrações bastante pequenas.

Neste estudo, foram observados efeitos colaterais com baixas concentrações de morfina, enquanto, em alguns momentos em que a concentração de morfina no líquido foi maior, nenhum efeito foi observado.

Não houve correlação entre concentração de morfina no líquido e efeitos colaterais observados. Aparentemente, o desaparecimento dos efeitos colaterais tem correlação com o tempo transcorrido após injeção de morfina subaracnóidea. Com base nos resultados deste estudo experimental realizado em ratos, com 0, 1; 0,3; 0,5 e 1 µg de morfina por via subaracnóidea em 10 µl de solução fisiológica, pode-se concluir que não há correlação entre concentração de morfina no líquido e efeitos colaterais.

Correlation between CSF Concentration and Side Effects after Spinal Morphine Injection in Rats

Neuzimar de Souza Freire Silva, M.D.; Rioko Kimiko Sakata, TSA, M.D.; Adriana Machado Issy, M.D.

INTRODUCTION

Morphine has been one of the first opioids used for postoperative analgesia and to control chronic pain. It is an opioid with low lipid solubility, moderate receptor affinity, moderate efficacy, low rate of receptor dissociation and prolonged duration. The discovery of opioid receptors in 1974¹ and the identification of endogenous opioids in 1975² have represented advances in pain control. Spinal morphine, for its low

liposolubility, has long onset and duration. In the spinal space, morphine is cranially spread and may promote side effects such as pruritus, nausea, vomiting and respiratory failure, being the latter the most feared side effect due to its late manifestation.

We have not found in the literature any correlation between CSF morphine concentration and side effects after spinal injection. In an attempt to establish this correlation, this study was performed by dosing CSF concentration after different morphine doses in rats, and observing side effects in different moments.

METHODS

This experimental study was performed after the Universidade Federal, São Paulo and Universidade Federal, Amazonas Ethics Committees approval and involved 28 Wistar healthy, male rats aged approximately 90 days and weighing 250 to 300 grams. Excluded from the protocol were animals with paws paralysis or flaccidity. Animals were maintained in individual cages receiving 12 hours of light per day, water and feed ad libitum throughout the experiment.

Animals were distributed in 4 groups of seven and all have received 10 µl spinal saline solution: G1 has received 0.1 µg morphine; G2 has received 0.3 µg morphine; G3 has received 0.5 µg morphine; and G4 has received 1 µg morphine.

Morphine was prepared through dilution of 1 mg morphine sulfate salt in 1 ml of 0.9% saline solution (1 mg/ml). Remaining doses (0.1; 0.3; 0.5 and 1 µg morphine in 10 µl) were prepared by dilution in 0.9% saline solution and maintained at 4 °C until analysis. For the 0.1 µg/10 µl solution, 50 µl were removed from the stored solution and 4950 µl of 0.9% saline solution were added. For the 0.3 µg/10 µl solution, 100 µl were removed from the stored solution and 3000 µl of 0.9% saline solution were added. For the 0.5 µg/10 µl solution, 100 µl were removed from the stored solution and 2000 µl of 0.9% saline solution were added. For the 1 µg/10 µl solution, 500 µl were removed from the stored solution and 4500 µl of 0.9% saline solution were added.

Animals were submitted to general anesthesia with muscular ketamine (60 µg/g) and xylazine (16 µg/g) for spinal catheter insertion by the modified Yaksh, Rudy technique³, with the catheter more laterally inserted to help drug administration and CSF collection. Catheter has reached high thoracic region spinal space approximately at T₃-T₄. Free catheter tip was closed with a small metal probe.

Animals were maintained in individual cages during anesthetic recovery and those with neurological deficits were excluded from the study.

Different morphine concentrations were randomly administered to animals 24 hours after spinal catheter insertion. All animals participating in the study were active, moving, receiving free water and feed, and totally recovered from anesthesia.

Injection was performed with 10 µl Hamilton's syringe graduated every 1 µl, at a rate of 5 µl per second.

CORRELATION BETWEEN CSF CONCENTRATION AND
SIDE EFFECTS AFTER SPINAL MORPHINE INJECTION IN RATS

CSF collection (0.2 ml) was performed in the following moments: 15 (M₁₅), 30 (M₃₀), 60 (M₆₀), 120 (M₁₂₀) and 180 (M₁₈₀) minutes after morphine administration. Samples were centrifuged and stored at -8 °C. CSF morphine was quantified by high-efficiency chromatography.

Arterial blood (0.3 ml) was collected between 15 and 30 minutes after morphine injection, from one animal of each group. Possible side-effects and complications were observed and recorded in moments M₀, M₅, M₁₅, M₃₀, M₆₀, M₁₂₀ and M₁₈₀, and were correlated to CSF morphine concentration.

Non-parametric tests were used for statistical analysis. Null hypothesis rejection level was established in 0.05 or 5% (p ≤ 0.05) for all tests.

RESULTS

CSF Morphine Concentration

Mean CSF morphine concentrations in G1 have progressively decreased and were significantly lower as compared to other groups in M₁₅, M₃₀, M₆₀ and M₁₂₀; G1 mean concentration in M₁₈₀ was similar to G2 and lower than G3 and G4. Decrease, followed by increase and again decrease was observed in G2 and G3; increase followed by decrease was also observed in G4 (Table I and Figure 1).

Table I - Mean CSF Morphine Concentrations (pg/100 µl) in Groups (G1: 0,1 µg; G2: 0,3 µg; G3: 0,5 µg; G4: 1 µg morphine) in Every Evaluated Moments (M₁₅, M₃₀, M₆₀, M₁₂₀ and M₁₈₀)

Moments after solutions administration (min)	Groups			
	G1	G2	G3	G4
M ₁₅	72.84	106.64	144.77	179.18
M ₃₀	19.01	96.91	121.47	386.14
M ₆₀	7.38	114.26	151.18	561.37
M ₁₂₀	3.25	37.81	42.52	47.86
M ₁₈₀	1.13	5.68	13.62	18.61

Correlation between CSF Morphine Concentration and Side Effects

G1, in M₁₅ (72.84 pg/100 µl), has presented: mandible tremor, agitation, pruritus, sedation and respiratory changes; in M₃₀ (19.01 pg/100 µl), mandible tremor, pruritus, sedation and respiratory changes; in M₆₀ (7.38 pg/100 µl) mandible tremor, pruritus, absence of diuresis, sedation and respiratory changes; both in M₁₂₀ (3.25 pg/100 µl) and M₁₈₀ (1.13 pg/100 µl) there were no effects.

G2, in M₁₅ (106.64 pg/100 µl), has presented: mandible tremor, agitation, pruritus, absence of diuresis, sedation and respiratory changes; in M₃₀ (96.91 pg/100 µl), agitation, pruritus, absence of diuresis, sedation and respiratory changes; in M₆₀ (114.26 pg/100 µl) pruritus, absence of diuresis, sedation and respiratory changes; in M₁₂₀ (37.81 pg/100 µl), pruritus and agitation; and in M₁₈₀ (5.68 pg/100 µl) there were no effects.

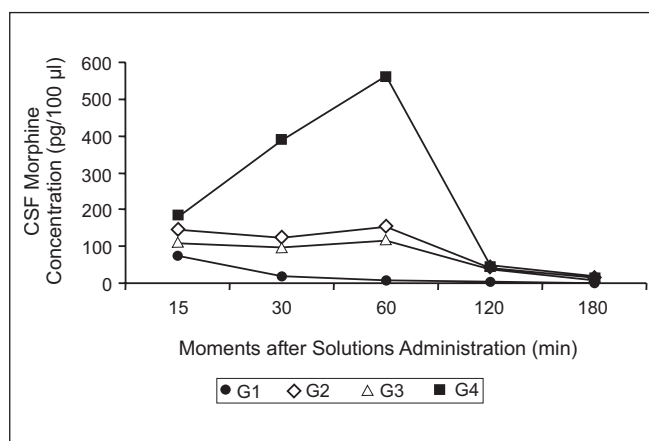


Figure 1 - Mean CSF Morphine Concentrations (pg/100 µl) in Groups and Moments (minutes) after Solutions Administration

G3, in M₁₅ (144.77 pg/100 µl), has presented: pruritus, sedation and respiratory changes; in M₃₀ (121.47 pg/100 µl), pruritus, sedation and respiratory changes; in M₆₀ (151.18 pg/100 µl) pruritus, absence of diuresis and sedation; in M₁₂₀ (42.57 pg/100 µl), pruritus and absence of diuresis; and in M₁₈₀ (13.62 pg/100 µl) there were no effects.

G4, in M₁₅ (179.18 pg/100 µl), has presented: pruritus, sedation and respiratory changes; in M₃₀ (386.14 pg/100 µl), pruritus, absence of diuresis, sedation and respiratory changes; in M₆₀ (561.37 pg/100 µl) pruritus, absence of diuresis and sedation; in M₁₂₀ (74.86 pg/100 µl), pruritus and sedation; and in M₁₈₀ (18.61 pg/100 µl) there were no effects (Table II).

Table II - Side Effects and Mean Concentrations after Spinal Morphine Administration

Moments (min)	Groups	C _{morphine} (pg/100 µl)	Side Effects					
			MT	Agit	P	AD	Sed	Resp Chg.
M ₁₅	G1	72.84	x	x	x		x	x
	G2	106.64	x	x	x	x	x	x
	G3	144.27			x		x	x
	G4	179.18			x		x	x
M ₃₀	G1	19.01	x		x		x	x
	G2	96.91		x	x	x	x	x
	G3	121.47			x		x	x
	G4	386.14			x	x	x	x
M ₆₀	G1	7.38	x		x	x	x	x
	G2	114.26			x	x	x	x
	G3	151.18			x	x	x	
	G4	561.37			x	x	x	
M ₁₂₀	G1	3.25						
	G2	37.81			x	x		
	G3	42.52			x	x		
	G4	47.86			x		x	
M ₁₈₀	G1	1.13						
	G2	5.68						
	G3	13.62						
	G4	18.61						

MT: mandible tremor; Agit: agitation; P: pruritus; AD: absence of diuresis; Sed: sedation; Resp Chg.: respiratory change, x: presence of effect

DISCUSSION

Wistar rats were chosen for this study because they are easy to acquire and handle, and to keep food and hygiene in the cages, in addition to their high organic resistance to infection and low cost. Several authors have also chosen rats for spinal morphine injections, for the above-mentioned reasons³⁻⁵.

Modified Yaksh, Rudy surgical technique⁵ was used for catheter insertion, for allowing relatively easy spinal space access through the cisterna magna. It also enables catheter maintenance for prolonged periods because it provides its effective fixation in addition to isolating it from animal's mouth and paws, thus preventing its removal. However, if strictly followed, this technique demands lots of time for catheter insertion with a high CSF collection failure rate.

The experiment was performed 24 hours after catheter insertion to prevent issues on residual anesthetic analgesia and also to enable the evaluation of absence of neurological injury. A longer time was not waited because there could be catheter tip obstruction, preventing solution diffusion and also serial CSF collection. This study, as well as others in the literature, was performed solely with awakened and freely moving animals, without contention³⁻⁵.

Morphine was the opioid of choice because, for being hydrophilic, it has a prolonged action. However, this characteristic is also responsible for the longer permanence of the drug in the CSF, as compared to lipophilic opioids. So, there is more cranial spread and binding of the opioid to encephalic receptors, promoting side effects such as pruritus, nausea, vomiting and respiratory depression. These side effects limit the use of spinal opioids.

We have found no study on the correlation of CSF morphine concentration and investigated side effects. To check whether this correlation exists, 0.1 to 1 µg doses were used. A study has shown that 1 µg spinal morphine has analgesic and side effect⁶.

In our study, CSF morphine concentration was lower than minimum concentration of 200 to 400 pg/100 µl reported in the literature⁷, only reaching this concentration in G4, during M₃₀ and M₆₀.

After intravenous administration, morphine is found in serum, CSF and brain of rats, within 5 minutes. In the brain, there is concentration decrease 30 minutes after, and it is maintained stable until 60 minutes. In CSF there is no concentration change 30 minutes after; however, 60 minutes after intravenous administration there is major increase, suggesting that morphine could have been retained in brain tissue. CSF could be an important pathway to eliminate morphine from the central nervous system, however its metabolites are not found there after single dose injection⁸.

Our study has found high CSF morphine concentration at 15 minutes. At 30 and 60 minutes, concentration changes were different among groups, either increasing or decreasing. At 120 and 180 minutes, there has been CSF morphine concentration decrease in all groups.

We have found high morphine concentrations in M₁₅ in all groups, probably because CSF samples were collected at the

injection site. There has been morphine concentration decrease in M₃₀ in three groups, probably due to drug spread to CSF and spinal cord, to adjacent tissues and brain. There has been increased concentration in G4, probably due to tissue morphine spread to CSF; there has also been increase in Groups 2, 3 and 4, in M₆₀. G1 continued to present decrease, probably because the dose was low and even with spread from tissue to CSF the increase was lower than the transfer of the drug from CSF to tissues.

There has been CSF morphine concentration decrease in M₁₂₀ and M₁₈₀ in all groups, probably because most drug had already been excreted; very low concentrations were detected in M₁₈₀.

Our study has observed side effects with low morphine concentrations, while in some moments when CSF morphine concentration was higher, no effect has been observed.

There has been no correlation between CSF morphine concentration and side effects. It seems that side-effects resolution is correlated to time after spinal morphine injection.

Based on the results of this experimental study with rats, with 0.1, 0.3, 0.5 and 1 µg spinal morphine in 10 µl saline solution, one may conclude that there is no correlation between CSF morphine concentration and side effects.

REFERÊNCIAS - REFERENCES

01. Snyder SH, Pert CB, Pasternak GW - The opiate receptor. *Ann Intern Med*, 1974;81:534-540.
02. Hughes J, Smith T, Morgan B et al - Purification and properties of enkephalin: the possible endogenous ligand for the morphine receptor. *Life Sci*, 1975;16:1753-1758.
03. Yaksh L, Rudy TA - Chronic catheterization of the spinal subarachnoid space. *Physiol Behav*, 1976;17:1031-1036.
04. Van den Hoogen RHWM, Bervoets KJK, Colpaert TFC - Respiratory effects of epidural and subcutaneous morphine, meperidine, fentanyl and sufentanil in the rat. *Anesth Analg*, 1988;67:1071-1078.
05. Dib B - Intrathecal chronic catheterization in the rat. *Pharmacol Biochem Behav*, 1984;20:45-48.
06. Nishiyama T - A rat model of chronic lumbar epidural catheterization. *Can J Anaesth*, 1998;45:907-912.
07. Matos FF, Rollema H, Taiwo Y et al - Relationship between analgesia and extracellular morphine in brain and spinal cord in awake rats. *Brain Research*, 1995;693:187-195.
08. Bolander H, Kourtopoulos H, Lundberg S et al - Morphine concentrations in serum, brain and cerebrospinal fluid in the rat after intravenous administration of a single dose. *J Pharm Pharmacol*, 1983;35:656-659.

RESUMEN

Silva NSF, Sakata RK, Issy AM - Correlación entre Concentración Liguórica y Efectos Colaterales después de Inyección de Morfina por Vía Subaracnoidea en Ratonos

JUSTIFICATIVA Y OBJETIVOS: *La morfina por vía subaracnoidea promueve buen efecto analgésico, solamente no es exenta de efecto colateral. El objetivo de este estudio fue verificar si hay correlación entre la concentración de morfina en*

CORRELATION BETWEEN CSF CONCENTRATION AND
SIDE EFFECTS AFTER SPINAL MORPHINE INJECTION IN RATS

el líquido y los efectos colaterales después de inyección de morfina por vía subaracnoidea.

MÉTODO: Fueron estudiados 28 ratones, en cuatro grupos, 24 horas después de colocación de catéter subaracnoideo vía cisterna magna. Los grupos G1, G2, G3, y G4 recibieron respectivamente 0,1; 0,3; 0,5 y 1 µg de morfina en 10 µl de solución fisiológica a 0,9%. Fueron colectadas muestras de líquido y anotados los efectos colaterales en los momentos M₁₅, M₃₀, M₆₀, M₁₂₀ y M₁₈₀ minutos después de la inyección.

RESULTADOS: Fueron observados efectos colaterales: *tremor de mandíbula, agitación, prurito, ausencia de diuresis,*

sedación y alteración respiratoria. Hubo mayor incidencia de efectos colaterales en las evaluaciones precoces, disminuyendo progresivamente con el tiempo. Las concentraciones medias de morfina en el líquido en el G1 varió de 72,84 a 1,13 pg; en el G2, de 114,26 a 5,68 pg; en el G3, de 151,18 a 13,62 pg; y en el G4, de 561,37 a 18,61 pg.

CONCLUSIONES: *No hubo correlación entre concentración de morfina en el líquido y efectos colaterales.*