



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO – UFMT

PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS – PPGVET

MATHEUS ANTHONY MENDES

**EFEITOS SISTÊMICOS DA INSTILAÇÃO OCULAR DE CETOROLACO DE
TROMETAMOL A 0,4% POR 15 DIAS EM GATOS SAUDÁVEIS**

Cuiabá – MT
2024

MATHEUS ANTHONY MENDES

**EFEITOS SISTÊMICOS DA INSTILAÇÃO OCULAR DE CETOROLACO DE
TROMETAMOL A 0,4% POR 15 DIAS EM GATOS SAUDÁVEIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Medicina Veterinária, da Universidade Federal de Mato Grosso, para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária, área de concentração Clínica Médica e Cirúrgica de Animais Domésticos e Silvestres com foco em Oftalmologia Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Pinto Ribeiro

Cuiabá – MT
2024

Dados Internacionais de Catalogação na Fonte.

M538e Mendes, Matheus Anthony.
Efeitos sistêmicos da instilação ocular de cetorolaco de trometamol a 0,4% por 15 dias em gatos saudáveis [recurso eletrônico] / Matheus Anthony Mendes. -- Dados eletrônicos (1 arquivo : 67 f., il. color., pdf). -- 2024.

Orientador: Alexandre Pinto Ribeiro.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Mato Grosso, Faculdade de Agronomia, Medicina Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Cuiabá, 2024.
Modo de acesso: World Wide Web: <https://ri.ufmt.br>.
Inclui bibliografia.

1. Exame de fezes. 2. Teste de sangramento. 3. Perfil bioquímico. 4. AINEs tópicos. 5. Gatos. I. Ribeiro, Alexandre Pinto, *orientador*. II. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Permitida a reprodução parcial ou total, desde que citada a fonte.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS
FOLHA DE APROVAÇÃO

TÍTULO: EFEITOS SISTÊMICOS DA INSTILAÇÃO OCULAR DE CETOROLACO DE TROMETAMOL A 0,4% POR 15 DIAS EM GATOS SAUDÁVEIS

AUTOR: Mestrando Matheus Anthony Mendes

Dissertação defendida e aprovada em 27 de fevereiro de 2024.

COMPOSIÇÃO DA BANCA EXAMINADORA

Doutor Alexandre Pinto Ribeiro (Presidente Banca/Orientador)

Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso

Doutora Marcy Lancia Pereira (Examinadora Externa)

Instituição: Universidade Federal de Santa Catarina

Doutora Lianna Ghisi Gomes (Examinadora Interna)

Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso

Doutora Valéria Régia Franco Sousa (Examinadora Suplente)

Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso

Cuiabá, 27 de fevereiro de 2024.



Documento assinado eletronicamente por **ALEXANDRE PINTO RIBEIRO, Docente da Universidade Federal de Mato Grosso**, em 04/03/2024, às 09:08, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **LIANNA GHISI GOMES, Docente da Universidade Federal de Mato Grosso**, em 04/03/2024, às 12:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Marcy Lancia Pereira, Usuário Externo**, em 04/03/2024, às 15:36, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufmt.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **6663457** e o código CRC **CIACBF08**.

Referência: Processo nº 23108.005631/2024-06

SEI nº 6663457

Agradecimentos

A minha família e amigos por todo o suporte e apoio.

À CAPES, pela bolsa de estudos.

Ao HOVET, a FAVET e a PPGVET da UFMT.

Ao setor de Oftalmologia Veterinária HOVET-UFMT, pela colaboração na realização de exames.

Ao Centro Cirúrgico e ao Setor de Anestesiologia do HOVET-UFMT, pela colaboração na realização dos procedimentos cirúrgicos e anestésicos.

Ao laboratório de Patologia Clínica do HOVET-UFMT, pela colaboração na realização de exames.

Ao laboratório de Virologia do HOVET-UFMT, pela colaboração na realização de exames.

Ao laboratório de Parasitologia do HOVET-UFMT, pela colaboração na realização de exames.

Aos laboratórios da Faculdade de Química-UFMT e a PPGQ-UFMT, pela colaboração na realização de exames.

RESUMO

Objetivo: avaliar o impacto da instilação de trometamol cetorolaco (TC) por três vezes ao dia durante 15 dias consecutivos nos parâmetros do hemograma, bioquímica sérica, urinálise, tempo de sangramento (TS) e no teste de sangue oculto nas fezes (SOF) em gatos saudáveis. **Metodologia:** amostras de sangue foram coletadas de 15 gatos para avaliar parâmetros hematológicos e da bioquímica sérica nos períodos basal e 15 dias após a instilação de TC por três vezes ao dia. Assim como urinálise e a presença de SOF foram realizadas nesses mesmos períodos. **Resultados:** valores basais do hemograma, bioquímica sérica e urinálise se mantiveram dentro das faixas de referências. No dia 15, depois do tratamento, foram observadas reduções significativas nos valores do hematócrito ($p = 0.03$), proteína total ($p = 0.02$) e potássio ($p = 0.004$) quando comparados com os valores basais. Apesar dessas mudanças, todas as mensurações se mantiveram dentro dos valores de referência, exceto a ALT, a que se elevou de forma significativa quando comparada aos valores basais ($p = 0.01$). O TS no período basal (133.5 ± 61.33 seg.) foi significativamente maior do que aquele mensurado após 15 dias de tratamento (102.1 ± 32.76 sec.) ($p = 0.03$). No período basal, todas as 15 amostras de fezes testaram negativo para o SOF (Figura 1A). Entretanto, no dia 15 após do tratamento, 11 das 15 amostras testaram positivas para SOF ($p < 0.0001$). **Conclusão:** o presente estudo demonstrou que instilações de TC por três vezes ao dia por 15 dias contínuos induziram injúria hepatocelular e sangramento gastrointestinal, com possíveis repercussões no hematócrito, proteína total e nos níveis de potássio. Contudo, nossos resultados devem ser interpretados com cautela devido à ausência de um grupo controle nesse estudo.

Palavras-chave: exame de fezes; teste de sangramento; perfil bioquímico; AINEs tópicos; gatos.

ABSTRACT

Purpose: to assess the impact of thrice-daily instillation of trometamol ketorolac (TK) over a 15-day period on the blood count, serum biochemistry profile, urinalysis parameters, bleeding time (BT), and fecal occult blood test (FOB) in healthy cats. **Methods:** blood was collected from 15 healthy cats to assess hematological and serum biochemical parameters at baseline and 15 days after the instillation of KT three times a day. Urinalysis parameters, the presence of FOB, and BT were also assessed at the same time points. **Results:** baseline blood count, serum biochemical, and urinary values were within reference limits. On day 15, significant reductions were observed in the hematocrit ($p = .03$), total protein ($p = 0.02$), and potassium ($p = 0.004$) compared to baseline values. Despite these changes, all measurements remained within the reference limits, except for ALT, which significantly increased when compared to baseline values ($p = 0.01$). The BT assessed at baseline (133.5 ± 61.33 sec.) was significantly longer than that recorded on day 15 (102.1 ± 32.76 sec.) ($p = 0.03$). At baseline, all 15 samples from cats tested negative for FOB (Figure 1A). However, by day 15, 11 out of 15 samples tested positive for FOB ($p < 0.0001$). **Conclusion:** the current study showed that in healthy cats, the thrice-daily instillation of KT for 15 consecutive days induced hepatocellular injury and gastrointestinal bleeding, with potential repercussions on hematocrit, total protein, and potassium levels. However, our results must be interpreted with caution, as a control group is lacking in the present study.

Keywords: fecal test; bleeding test; biochemistry profile; topical NSAIDs; cats.

LISTA DE FIGURA

Figura 1 – Sequência ilustrando a detecção de sangue oculto nas fezes pela reação ao luminol em 15 gatos. Da Figura A a O, o frasco à esquerda (1) de cada figura representa amostras fecais coletadas no início do estudo. Os frascos do lado direito (2) de cada figura representam amostras fecais coletadas 15 dias após a administração de trometamol cetorolaco tópico em gatos. Amostras fecais positivas (de A até K) apresentaram fluorescência azul após a adição de luminol.....29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Sistema de pontuação fecal utilizado	22
Tabela 2 – Média $\pm$ desvio padrão dos parâmetros clínicos em gatos no período basal e depois da instilação de trometamol cetorolaco a 0,4% por 15 dias	26
Tabela 3 – Média $\pm$ desvio padrão do hemograma em gatos no período basal e depois da instilação de trometamol cetorolaco a 0,4% por 15 dias	26
Tabela 4 – Média $\pm$ desvio padrão do perfil bioquímico sérico em gatos no período basal e depois da instilação de trometamol cetorolaco a 0,4% por 15 dias.....	27
Tabela 5 – Média $\pm$ desvio padrão dos parâmetros do perfil urinário em gatos no período basal e depois da instilação de trometamol cetorolaco a 0,4% por 15 dias .	28

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
1.1	Objetivo.....	12
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	13
2.1	Mecanismos e eventos inflamatórios e anti-inflamatórios na homeostase e patologia ocular	13
2.2	Trometamol cetorolaco (TC) como anti-inflamatório não esteroidal (AINE)	16
2.3	Efeitos adversos relacionados aos AINEs e do TC.....	18
2.4	Efeitos sistêmicos relacionados aos AINEs em gatos domésticos	19
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	20
3.1	Animais	20
3.2	Tratamentos	21
2.3	Exames clínicos, avaliação de fezes e consumo de alimentos	21
2.4	Exames hematológicos e ultrassonográficos	22
3.5	Tempo de sangramento (TS).....	23
3.6	Sangue oculto nas fezes (SOF)	24
3.7	Análise estatística	24
4	RESULTADOS.....	26
5	DISCUSSÃO.....	30
6	CONCLUSÃO.....	37
	REFERÊNCIAS.....	38
	ANEXO A – Comprovante de submissão do artigo “Systemic effects of ocular instillation of 0.4% ketorolac trometamol for 15 days in healthy cats” ao periódico Veterinary Ophtalmology, fator de impacto 1,44	47
	APÊNDICE A – Arquivo submetido ao periódico Current Eye Research	48
	ANEXO B – Comprovante de submissão do resumo e pôster “Systemic effects of ocular instillation of 0.4% trometamol ketorolac for 15 days in healthy cats” aceito no Encontro Científico Anual do Colégio Europeu de Oftalmologia Veterinária de 2024 (ECVO 2024), ocorrido nos dias 30 de maio até o dia 2 de junho de 2024 em Amsterdã, Holanda	64
	APÊNDICE B – Resumo submetido ao ECVO2024	65

1 INTRODUÇÃO

Os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) inibem a enzima cicloxigenase, reduzindo os mediadores pró-inflamatórios (GIULIANO, 2004; PĂUNESCU *et al.*, 2011; MCLEAN & KHAN, 2018). Quando comparados aos glicocorticoides, os AINEs são preferíveis para os tratamentos da uveíte causada por infecções oculares, em pacientes diabéticos e nos possíveis casos de ceratouveíte ulcerativa ou abscesso estromal (GIULIANO, 2004).

Ademais, na sua forma tópica, os AINEs são utilizados no período pós-operatório de cirurgias intraoculares para controlar a inflamação (FENOLLOSA-ROMERO *et al.*, 2020; BAILEY & WEBB, 2022). O trometamol ceterolaco (TC) é um AINE, não seletivo das COXs e inibidor da hidrólise de endocanabinoides, como a anandamida, comumente prescrito na oftalmologia veterinária na forma de colírio, mas mesmo que seu uso seja frequente, ainda faltam publicações de estudos sobre seus efeitos sistêmicos e na inflamação intraocular (FOWLER *et al.*, 1999; GIULIANO, 2004; VAN VERTLOO *et al.*, 2023).

Em gatos, os efeitos adversos mais reportados com maior frequência durante o uso dos AINEs incluem distúrbios gastrointestinais, hepatotoxicidade e nefrotoxicidade (HUNT *et al.*, 2015; MCLEAN & KHAN, 2018). Contudo, discrasias sanguíneas, hematúria, perda de pelo, problemas respiratórios, parada cardíaca e incoordenação são notadas de forma menos comum (MCLEAN & KHAN, 2018; HUNT *et al.*, 2015). Após a instilação de soluções oftálmicas, uma porção é absorvida sistemicamente via vasos conjuntivais e a restante pode ser absorvido pelo sistema de drenagem nasolacrimonial, sendo absorvida pela mucosa nasal ou deglutida após atingir a boca (SEBBAG *et al.*, 2020; EWALD *et al.*, 2022).

A absorção sistêmica devido a instilação oftálmica de AINEs foi relatado em frangos, coelhos, cães e gatos (SEBBAG *et al.*, 2020; EWALD *et al.*, 2022; GRIGGS *et al.*, 2017; PEREIRA *et al.*, 2019; HSU *et al.*, 2015; LANUZA *et al.*, 2016; ARAÚJO *et al.*, 2024). A ocorrência de eventos sistêmicos adversos secundários a administração de AINEs, embora rara, já foi descrita em seres humanos, *in vitro*, como a inibição da função plaquetária e a exacerbação da asma brônquica (SITENGA *et al.*, 1996; FALCINELLI *et al.*, 2019; SYED *et al.*, 2021).

Em frangos, a administração tópica de diclofenaco em um ou em ambos os olhos diminuiu os níveis de proteína total, mas não foi capaz de alterar os níveis de

ácido úrico (GRIGGS *et al.*, 2017). De forma similar, já foi demonstrado que coelhos tratados por 90 dias com solução tópica de TC não desenvolveram alterações sistêmicas adversas baseados em sinais clínicos, consumo alimentar, resultados laboratoriais e histopatológicos dos rins e do fígado (PEREIRA *et al.*, 2019). Em dois estudos conduzidos em gatos saudáveis, demonstrou-se que a instilação de diclofenaco ou flurbiprofeno não induziram anormalidades clinicamente relevantes no hemograma, urinálise e perfil bioquímico sérico (HSU *et al.*, 2015; LANUZA *et al.*, 2016).

Assim, alterações gastrointestinais também são consideradas o efeito colateral mais comum relatado em cães que recebem AINEs pela via oral, podendo ocorrer também em gatos (VAN VERTLOO *et al.*, 2023; LUNA *et al.*, 2007; DOBBERSTEIN *et al.*, 2022). Em estudos experimentais conduzidos nessa espécie, a presença de sangue oculto fecal (SOF) foi observada 7 dias depois da administração oral de etodolaco, meloxicam, cetoprofeno ou flunixinina meglumina. Da mesma forma, um estudo retrospectivo reportou que a incidência de sangramento gastrointestinal em cães recebendo AINES pela via tópica é comparável ao de cães que receberam AINES ou glicocorticóides de forma sistêmica (VAN VERTLOO *et al.*, 2023). Todavia, outro estudo realizado em cães hígdos demonstrou que a instilação de TC, duas vezes ao dia por 30 dias consecutivos, não resultou em sinais gastrointestinais, como melena ou vômito, anormalidades no hemograma, no perfil bioquímico sérico e na urinálise (ARAÚJO *et al.*, 2024).

Diferentemente dos cães, que demonstram um tempo de sangramento (TS) aumentado decorridos 7 dias do início do tratamento oral com AINEs, gatos que utilizaram ácido acetilsalicílico, meloxicam, vedaprofeno e firocoxibe não exibiram nenhuma mudança neste parâmetro (LUNA *et al.*, 2007; HART *et al.*, 1995; CAROLL *et al.*, 2005; BRONDANI *et al.*, 2009, PHUWAPATTANACHART *et al.*, 2017). Porém, em todos os estudos que envolveram gatos, o TS foi avaliado apenas após o uso de AINEs por um período de 24, 48 ou 52 horas após a realização de cirurgias (HART *et al.*, 1995; CAROLL *et al.*, 2005; BRONDANI *et al.*, 2009, PHUWAPATTANACHART *et al.*, 2017). Assim como em cães, o uso de AINEs, em gatos, na forma de colírio é instituído por longos períodos no tratamento pós-operatório de facoemulsificação (FENOLLOSA-ROMERO *et al.*, 2020; BAILEY & WEBB, 2022). Logo, desconhecem-se os possíveis efeitos de eventos adversos sistêmicos durante a administração tópica de TC em gatos por longos períodos.

1.1 Objetivo

Avaliar se instilação de TC a 0,4% (três vezes ao dia) por 15 dias em gatos saudáveis promove alterações no hemograma, na bioquímica sérica (albumina, alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase, fosfatase alcalina, gama-glutamil transferase, bilirrubinas, uréia, creatinina, colesterol, lactato, glicose, sódio e potássio), em parâmetros de urinálise (densidade, pH e relação préina/creatinina), no TS e no teste de SOF.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Mecanismos e eventos inflamatórios e anti-inflamatórios na homeostase e patologia ocular

Os eventos nas fases inflamatórias e anti-inflamatórias são fundamentais na homeostase e patologia dos organismos, principalmente nos olhos, envolvendo diversas vias moleculares, como os lipídios e algumas enzimas (GRAHN & PEIFFER, 2021; WEGG *et al.*, 2021; WANG *et al.*, 2021). Ademais, os ácidos graxos, os quais podem ser exógenos, como os advindos derivados da dieta (do tipo ω -3: Ácido Timnodônico ou EPA, Ácido 2Clupanodônico ou DPA e Ácido Cervônico ou DHA) e endógenos, pela fosfolipase A, por meio do tecido celular (geralmente do tipo ω -6: Ácido Araquidônico ou AA e do tipo ω -9: Ácido de Mead, esse quando necessário), são peças importantes desse complexo mecanismo (HANSEN & ARTMANN 2008, MCDOUGLE *et al.*, 2017).

Esses compostos covalentes medeiam grande parte das fases inflamatórias e anti-inflamatórias, por meio de ação enzimática e não enzimática, com formação dos seus produtos oxilipinos, que em grande parte são formados por eicosanoides, tanto em situações fisiológicas e/ou patológicas (TOGURI *et al.*, 2016; EDIN *et al.*, 2015; STARK *et al.*, 2021). Logo, os processamentos enzimáticos podem ser pela ação da epoxigenase da CYP450, lipoxigenase e cicloxigenase e, além dessas vias comuns, há também pela esterificação pela diacilglicerol lipase (DAGL) e n-aciltransferase (NAT) e/ou hidrólise pela amida hidrolase de ácidos graxos (FAAH) e da monoacilglicerol lipase (MAGL) de canabinoides. Já os processamentos não enzimáticos podem ser pela peroxidação por estresse oxidativo (por espécies reativas de oxigênio) e s-nitrosação (por modificação pós-traducional) (FOWLER *et al.*, 1999; ROUZER *et al.*, 2011; PĂUNESCU, *et al.*, 2011; TOGURI *et al.*, 2016; EDIN *et al.*, 2015; PUTMAN *et al.*, 2021).

Acerca dos produtos dessas vias, principalmente nos eventos que ocorrem nos tecidos oculares, os eicosanoides são moduladores essenciais para o equilíbrio do organismo (EDIN *et al.*, 2015; GRAHN & PEIFFER, 2021). Eles funcionam em diversos sistemas fisiológicos e processos patológicos, tais como a inibição (por meio de mediadores pró-resolutivos especializados) ou aumento da inflamação (geralmente relacionados a prostanoídes inflamatórios), alergias, febre, dor, diversas respostas

imunitárias e leucocitárias, na modulação do sistema endocanabinoide, atuação no sistema reprodutor e no parto, regulação do crescimento celular, modulação do fluxo e da pressão sanguínea para os tecidos e entre outras ações de forma geral (SONNWEBER *et al.*, 2018; WANG *et al.*, 2021). Essas oxilipinas, majoritariamente, podem ser divididas em endocanabinoides, prostaglandinas G₂, H₂, D₂, E₂ e F₂α, prostaciclina I₂ e tromboxanos A₂ e B₂, ácidos hidroxi-eicosatetraenoicos 5, 12, 15 e 20, leucotrienos A₄, B₄, C₄, D₄ e E₄, hepoxilinas A₃ e B₃, eoxinas A₄, C₄, D₄ e E₄, protectinas, maresinas, resolvinas E₁, E₂ e E₃, lipoxinas A₄ e B₄, isoprostanos pelo estresse oxidativo A₂, D₂, E₂ e J₂ e S-nitrosotiois (ROUZER *et al.*, 2011; PUTMAN *et al.*, 2021). Ao desempenhar essas múltiplas funções citadas anteriormente, os eicosanoides, costumam atuar também como sinalizadores autócrinos para agir em suas células de origem, como sinalizadores parácrinos para impactar células na proximidade de suas células de origem e/ou também podem atuar como agentes endócrinos para controlar a função de alvos celulares remotos (EDIN *et al.*, 2015; WANG *et al.*, 2021).

Na resposta inflamatória, aos estímulos lesivos ou imunológicos aos tecidos oculares, ocorrerá a degradação enzimática de canabinoides endógenos e ativação enzimática das fosfolipases na membrana fosfolipídica celular acometida, sendo isso tudo parte principalmente da formação do ácido araquidônico e das suas diversas vias relacionadas às suas cascatas de reações (LICLICAN *et al.*, 2010; WANG *et al.*, 2021). De forma geral, esse ácido araquidônico produzido pode ser coordenado pelas vias das lipoxigenases (LOX), principalmente para promover quimiotaxia leucocitária e broncoconstrição, e das vias das cicloxigenases 1 e 2, responsáveis pela homeostase do organismo por meio dos efeitos citoprotetores da mucosa gástrica, função plaquetária, perfusão renal, parte da modulação do sistema endocanabinoide, contração uterina, tônus endovascular e atividade anti-inflamatória, principalmente por meio das lipoxinas, e inflamatória, que até certo ponto pode ser patológica ou fisiológica (PĂUNESCU, *et al.*, 2011; WANG *et al.*, 2021).

Os produtos da lipoxigenase incluem ácidos hidroxil-eicosatetraenoicos e leucotrienos, já os das cicloxigenases (COX) ocorrem pela metabolização de endocanabinoides oxigenados e pela conversão do ácido araquidônico em prostaglandinas (PGs), prostaciclina e tromboxanos (MAGGS, 2013; FOWLER, 2021; LAFRENIERE *et al.*, 2023). A COX-1, fisiologicamente expressada na maioria das células, produz tromboxanos, relacionados à vasoconstrição e agregação

plaquetária, e PGs, que modulam a homeostase tecidual e inflamação, além de que estudos anteriores demonstraram sua possível correlação com situações patológicas trombóticas e também a COX-1 como possibilidade de alvo terapêutico, enquanto que a COX-2, restrita na maioria das vezes em reação a estímulos nocivos e inflamatórios, é expressa em células saudáveis ou doentes/neoplásicas, como também atua na oxigenação de endocanabinoides e ativação de mediadores inflamatórios e do sistema imune, assim como, de forma reversa, a anandamida também pode ser sintetizada nestas vias a partir do AA livre (IRIBARNE *et al.*, 2008; MAGGS, 2013; FOWLER, 2021; LAFRENIERE *et al.*, 2023). Já a COX-3 é uma variante da COX-1 que compartilha todas as características catalíticas da COX-1 e COX-2 (MUÑOZ *et al.*, 2010). A comparação da atividade da COX-3 canina com a COX-1 e COX-2 murina demonstraram que esta enzima é inibida seletivamente por medicamentos analgésicos e/ou antipiréticos, como também pode ser inibida por alguns anti-inflamatórios não esteroidais, já que a inibição medicamentosa da COX-3 poderia implicar em diminuição dos efeitos da dor e da febre (CHANDRASEKHARAN *et al.*, 2002; MUÑOZ *et al.*, 2010).

Quando a barreira hemato aquosa é desafiada por agentes inflamatórios, ocorre a sua ruptura e aumento da sua permeabilidade, afetando a sua atividade produtora de humor aquoso, a qual resulta em um influxo de proteínas e células na câmara anterior e posterior, favorecendo assim a uveíte anterior, uveíte posterior e/ou panuveíte (MILLER, 2013; GLAZE *et al.*, 2021; SAMUELSON, 2021; GRAHN & PEIFFER, 2021; RANKIN, 2021; WEGG *et al.*, 2021; PEIFFER *et al.*, 1991; FREDDO, 2001). Dentre os diversos mediadores inflamatórios envolvidos nessa ruptura, destacam-se os leucotrienos, o fator ativador de plaquetas, neuropeptídeos relacionados a calcitonina, a substância P, interleucinas, óxido nítrico, bradicinina, endocanabinoides e PGs (MAGGS, 2009; TOGURI *et al.*, 2016; FOWLER, 2021; LAFRENIERE *et al.*, 2023; RANKIN, 2021; BHATTACHERJEE *et al.*, 1997).

As PGs desempenham um papel importante na ativação e manutenção da inflamação ocular, principalmente a PGE₂, pois atua como mediadora dos sinais inflamatórios, principalmente no contexto da uveíte, a qual é muito comum na rotina oftalmológica veterinária de felinos, além de que estudos anteriores demonstraram que, majoritariamente, os casos de uveíte anterior costumam ser de origens idiopáticas (CHAVKIN *et al.*, 1992; MILLER, 2013; GLAZE *et al.*, 2021; GEMENSKY *et al.*, 1996; TOWNSEND, 2008; MAGGS, 2009; WEGG *et al.*, 2021; PEIFFER *et al.*,

1991). Os sinais da uveíte podem ser associados ao edema e inflamação da íris (iridite), que pode se manifestar na forma de miose, e inflamação do corpo ciliar (ciclite), ou ambos (iridociclite), que causam redução na produção de humor aquoso ensejando em hipotonia intraocular aguda, e o aumento da permeabilidade vascular uveal anterior, promovendo o aumento da concentração proteica no humor aquoso e alterações na pressão intraocular. Além disso, a uveíte posterior pode prejudicar a circulação posterior (coroidite), a retina (retinite) e/ou ambas (coriorretinite, também conhecida por retinocoroidite) as alterações (MAGGS, 2013; RANKIN *et al.*, 2011; ANAND-APTE *et al.*, 2010; GELATT & PLUMMER, 2017).

O conhecimento acerca dessas vias inflamatórias e de reparação do organismo são de extrema importância tanto no contexto fisiológico, patológico, terapêutico e toxicológico, visto que os AINEs podem ter seus efeitos benéficos ou adversos de acordo com as interações com essas vias, principalmente para o CT, que é um AINE não seletivo para a COX e inibidor da hidrólise de endocanabinoides pela amida hidrolase produtora de ácido araquidônico (ALHOUAYEK *et al.*, 2014; FOWLER *et al.*, 1999). Dessa forma, isso pode contribuir com o desenvolvimento de novos medicamentos inibidores de COX com preferência por endocanabinoides e inibidores de dupla ação FAAH/COX, os quais podem abrir caminho para novos medicamentos que atinjam a resolutividade terapêutica sem o risco de efeitos adversos gastrointestinais e cardiovasculares, por exemplo (FOWLER, 2012).

2.2 Trometamol cetorolaco (TC) como anti-inflamatório não esteroidal (AINE)

O tratamento da uveíte anterior inclui o uso de agentes antimicrobianos específicos, quando detectados agentes infecciosos, e de medicamentos anti-inflamatórios sistêmicos e tópicos, o qual inclui o uso isolado ou combinado de colírios à base de corticosteroides e de anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) (GLAZE *et al.*, 2021; RANKIN, 2021). Como a uveíte anterior é comum em gatos e a maioria dos casos é idiopática, o tratamento visa aliviar os sinais de dor, desconforto, além de prevenir as complicações associadas à inflamação e pressão intraocular (CHAVKIN *et al.*, 1992; MILLER, 2013; GLAZE *et al.*, 2021; RANKIN *et al.*, 2011).

Os AINEs não são indicados em casos de doença gastrointestinal, intolerância a AINEs, doença renal, hepatopatias, coagulopatias, hipovolemia e hipotensão, administração concomitante de AINEs ou corticosteroides, devido aos efeitos

adversos. Desse modo, apesar dessas restrições quanto aos AINE's, sua indicação de uso, como o TC, na rotina clínica de felinos, é importante devido aos seus efeitos anti-inflamatórios, antipiréticos e analgésicos (SPARKES *et al.*, 2010; STEAGALL *et al.*, 2022).

A Sociedade Internacional de Medicina Felina e a Associação Americana de Médicos de Felinos publicaram diretrizes relativamente ao consenso sobre o uso a longo prazo de AINEs em 2010, e sobre tratamento multimodal nas Diretrizes do Consenso Sobre o manejo da dor aguda em gatos em 2022, ambas publicações recentes que abordam sobre a vigilância dos efeitos adversos dos AINEs, como também sobre a importância da avaliação clínica e monitoramento de parâmetros laboratoriais a respeito do acompanhamento clínico de pacientes felinos utilizando AINEs, porém grande parte desses guias envolveram estudos com administração sistêmica oral ou injetável (SPARKES *et al.*, 2010; STEAGALL *et al.*, 2022).

É descrito em humanos que a instilação oftálmica de cetorolaco de trometamol é segura e eficaz no controle da dor e da inflamação oriunda de cirurgias fotorrefrativa e de catarata, sendo assim um promissor fármaco para ser pesquisado na oftalmologia veterinária de felinos (TRATTLER *et al.*, 2007; MACA *et al.*, 2010; DONNENFELD *et al.*, 2011). O cetorolaco de trometamol é um AINE não seletivo para a COX e inibidor da hidrólise de endocanabinoides pela amida hidrolase produtora de ácido araquidônico, pertencendo ao grupo do ácido heteroaril acético (VADIVELU *et al.*, 2015; ALHOUAYEK *et al.*, 2014). O CT, em humanos, é metabolizado principalmente pela conjugação do ácido glicurônico e excretado pelos rins, mas um estudo conduzido em gatos sugeriu que a via da p-hidroxilação pudesse ser uma via importante nessa espécie (VILLA *et al.*, 2015).

Pesquisas em humanos demonstram que a infusão contínua de cetorolaco mais tramadol em curto prazo (72 horas) não está associada a eventos adversos como disfunção aguda hepática ou renal ou anormalidades nos parâmetros de coagulação durante a hospitalização dos pacientes e dentro de 30 dias após a alta médica (PINTO *et al.*, 2024). Outro estudo randomizado controlado de uma nova formulação de cetorolaco trometamina para infusão contínua em voluntários humanos saudáveis demonstrou que as concentrações sanguíneas de cetorolaco foram previsíveis de forma confiável e os efeitos colaterais foram geralmente leves, sem eventos adversos inesperados (PERGOLIZZI *et al.*, 2023).

2.3 Efeitos adversos relacionados aos AINEs e do TC

A ocorrência de eventos sistêmicos adversos secundários à instilação ocular de AINEs foi relatada em seres humanos, aves, coelhos, cães e gatos (PEREIRA *et al.*, 2019; HSU *et al.*, 2015; LANUZA *et al.*, 2016; GRIGGS *et al.*, 2017; VAN VERTLOO *et al.*, 2023; SYED *et al.*, 2021). Ademais, supõe-se que a instilação oftálmica de colírios é parcialmente absorvida pela circulação sistêmica pelas vias conjuntival, nasolacrimal e nasofaríngea ou por deglutição (PAULSEN *et al.*, 2002; MAGGS, 2013; REGNIER *et al.*, 2021; ADRIANTO *et al.*, 2022). Os efeitos adversos mais frequentes ao CT são distúrbios gastrointestinais, incluindo hemorragia gastrointestinal, perfuração e ulceração péptica (SINHA *et al.*, 2009). A administração ocular do TC pode estar associada a ardor transitório e irritação ocular em humanos, no entanto foi descrito que a instilação de TC não altera o limiar de sensibilidade corneal em gatos (SINHA *et al.*, 2009; ROBERTS *et al.*, 2021).

Possíveis efeitos sistêmicos oriundos da via tópica de AINEs são relatados, visto que em humanos, a via tópica cutânea de AINES pode causar aumento da creatinina sérica, úlceras gástricas, alterações nas funções renais. De forma similar, a instilação ocular de AINEs foi estudada por estar envolvida com a exacerbação da asma brônquica e inibição da função plaquetária (EVANS *et al.*, 1995; SITENGA *et al.*, 1996; SHARIR, 1997; OTSUKA *et al.*, 2017; FALCINELLI *et al.*, 2019; SYED *et al.*, 2021). Pesquisas com aves domésticas demonstraram que a instilação oftálmica de diclofenaco resultou na queda dos níveis de proteína total sem os níveis plasmáticos de ácido úrico (GRIGGS *et al.*, 2017). Em coelhos, foi demonstrado que a instilação oftálmica de ceterolaco de trometamol por 90 dias não ensejou alterações histopatológicas na mucosa gástrica, nos rins e no fígado (PEREIRA *et al.*, 2019).

Além disso, embora os pesquisadores desse mesmo estudo tenham reportado que a instilação do ceterolaco por 90 dias não tenha promovido alterações no hemograma (eritrograma, leucograma, na contagem de plaquetas), nos níveis séricos de proteína total, albumina, creatinina, sódio e potássio, resultados relativos a tais avaliações não foram descritos no artigo (PEREIRA *et al.*, 2019). Luna *et al.* (2007) relataram que a administração sistêmica de diferentes AINEs, em cães, por 90 dias consecutivos não alterou a contagem de plaquetas, mas aumentou significativamente os tempos de sangria. No entanto, em outro estudo retrospectivo, foi demonstrado que cães que recebem AINEs pela via oftálmica podem apresentar risco aumentado de

sangramento gastrointestinal (VAN VERTLOO *et al.*, 2023). Ademais, reportou-se em humanos que o uso sistêmico de TC, piroxicam, cetoprofeno, indometacina, naproxeno e aspirina foram associados a riscos individuais particularmente elevados para sangramento gastrointestinal superior, mesmo em doses baixas (LAPORTE *et al.*, 2004).

2.4 Efeitos sistêmicos relacionados aos AINEs em gatos domésticos

O trometamol cetorolaco (TC) é um AINE, não seletivo das COXs e inibidor da hidrólise de endocanabinoides, e comumente prescrito na rotina oftalmológica de felinos. Além disso, em um estudo para avaliar os efeitos oculares e determinar a eficácia do cetorolaco tópico e da terfenadina oral, o TC apresentou efeito benéfico no controle do prurido ocular em gatos (MAROUN & RAIZMAN, 1995). Em gatos, apenas dois estudos foram desenvolvidos relativamente aos possíveis efeitos sistêmicos oriundos da instilação oftálmica de AINEs e seus resultados são controversos (HSU *et al.*, 2015, LANUZA *et al.*, 2016).

No estudo de Hsu *et al.* (2015), os pesquisadores não observaram alterações nos níveis séricos de albumina, globulina, glicose, alanina aminotransferase, fosfatase alcalina, gama-glutamil transpeptidase, ureia, creatinina, fósforo, potássio, relação proteína/creatinina urinária e densidade urinária. No outro estudo realizado em gatos, foi constatada uma redução significativa nos níveis séricos de ureia e creatinina, assim como da densidade urinária, decorridos 15 dias da instilação oftálmica contínua de diclofenaco sódico a 0,1% (LANUZA *et al.*, 2016). Todavia, nesse mesmo estudo tais parâmetros não ficaram fora dos valores de referência para gatos. Apesar de Hsu *et al.* (2015) terem reportado redução na taxa de filtração glomerular, sugeriu-se que essa alteração pudesse estar associada ao delineamento experimental do tipo *crossover*, pois o estudo com diclofenaco ocorreu após a fase placebo, fazendo com que os indivíduos desenvolvessem hipovolemia devido a múltiplas coletas sanguíneas.

Frente ao exposto, pareceu-nos oportuno avaliar o uso TC a 0,4% e seus possíveis efeitos sistêmicos em gatos, visto que possíveis efeitos sistêmicos oriundos da instilação oftálmica deste fármaco nunca foram investigados.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Animais

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Mato Grosso (protocolo nº 23108.032300/2022-79), além disso, houve permissão dos responsáveis dos felinos através da assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido. Dessa forma, quinze gatos domésticos de pelo curto (7 fêmeas e 8 machos), não castrados, com idades média de 1,46 anos (1 e 3 anos) e peso médio de 3,48 kg (2,7 e 4,4 kg) foram incluídos no estudo.

Os critérios de exclusão, avaliados durante a abordagem prévia por anamnese e exames clínicos físicos e complementares, foram alterações na coloração das mucosas, na frequência cardíaca (120-220 bpm), respiratória (16-40 rpm), temperatura retal (37,5°C-39,2°C), tempo de preenchimento capilar (até dois segundos), palpação de linfonodos, grau de hidratação, comportamento agressivo ou intolerância a contenção, tratamento atual ou recente (30 dias antes) com qualquer medicamento sistêmico ou tópico, histórico de alterações oftálmicas ou qualquer outra comorbidade sistêmica conhecida, além de alterações prévias no hemograma e bioquímico, resultados positivos de PCR para os vírus da imunodeficiência felina e da leucemia viral felina e/ou no exame coproparasitológico seriado.

Também foram excluídos os felinos com alterações oftálmicas nos exames de resposta de ameaça, ofuscamento e no reflexo pupilar direto e indireto à luz, de biomicroscopia com lâmpada de fenda (SL-15®, Kowa, Japão) dos anexos, córnea, câmara anterior, lente e vítreo, de pressão intraocular avaliada por tonometria de rebote (Tonovet Plus®, iCare, Finlândia), no exame da retina e do nervo óptico por oftalmoscopia indireta (FOH-5®, Eyetec, São Carlos, Brasil) e no exame de córneas com resultado negativo ao teste do corante de fluoresceína (Fluorescein Strips®, Ophthalmos, São Paulo, Brasil).

Todos os procedimentos laboratoriais foram realizados em cada gato aproximadamente uma semana antes do início do estudo para garantir que todos os indivíduos estivessem saudáveis, sendo os mesmos exames repetidos durante a coleta de dados antes e depois do tratamento. Além disso, este experimento foi realizado em uma sala com padronização média de 39 lux de luminosidade, 25°C de temperatura e 42,5% de umidade relativa do ar, além de que os gatos foram expostos

a um ciclo claro/escuro de 12 horas, alimentados, por 1 semana antes da vinda para coleta dos exames e também depois ao decorrer do estudo, com dieta seca regular (Golden Gatos®, Premier Pet®, SP, Brasil) calculada de acordo com os pesos de cada indivíduo, além de ser servido por três vezes ao dia e água ad libitum.

Além disso, o ambiente dos gatos foi adaptado de acordo com Taylor et al. (2022), na sua publicação das Diretrizes para Ambiente Veterinário "Cat Friendly" da AAFP/ISFM de 2022, onde foram alocados de forma individual os felinos em gaiolas de compartimento único, composta por brinquedos, caixas de papelão com cobertores de pano (como abrigo e para comportamentos físicos, como escaladas e o ato de arranhar) e com potes de comida, de água e caixa sanitária com areia (Pipicat Classic®, Kelco Pet Care®, produtos animais LTDA, SP, Brasil), sendo este bem separado dos outros, sendo também respeitado um limite de tempo (45 minutos por três vezes ao dias) para soltura individual de cada um dos gatos.

3.2 Tratamentos

Após a obtenção dos parâmetros basais, os gatos receberam 40 µL de solução oftálmica de TC 0,4% (Acular® LS, Allergan, SP, Brasil) em ambos os olhos a cada 08 horas durante 15 dias consecutivos, sendo reavaliados os parâmetros depois do tratamento.

2.3 Exames clínicos, avaliação de fezes e consumo de alimentos

Antes e após os tratamentos, mediante após a inclusão dos gatos neste estudo, aferiram-se as frequências respiratória e cardíaca com estetoscópio e cronômetro. A mensuração da pressão arterial foi realizada de forma indireta pelo método oscilométrico (Petman®) que fornece a pressão sistólica (PAS), média (PAM) e diastólica (PAD) e foram considerados os valores de pressão arterial média. Foi escolhido de forma individual o manguito, medindo de 30 a 40% da circunferência do membro torácico do gato.

Após a climatização do gato pelo tempo mínimo de 10 minutos, a aferição da PA foi realizada, no local que o gato estivesse mais confortável, tendo sido dada preferência para ser realizada com o gato dentro da sua caixa de transporte. A aferição foi realizada pelo mesmo observador com seis repetições e exclusão do primeiro valor

e em seguida realizado a média das demais (ACIERNO et al., 2018). A avaliação da hidratação de acordo com o trabalho de Davis et al (2008), sendo classificada de grau normal com ausência de sinais clínicos, de grau leve com perda mínima de turgor da pele, membranas mucosas semi-secas, olho normal, de grau moderada com perda moderada de turgor da pele, membranas mucosas secas, pulsos fracos e rápidos, com enoftalmia e de grau grave com perda considerável de turgor da pele, enoftalmia grave, taquicardia, membranas mucosas extremamente secas, pulsos fracos, hipotensão e com alteração do nível de consciência.

O consumo diário de alimento foi mensurado pela subtração da quantidade de ração administrada (gramas) e a sua sobra. Antes e ao final do estudo todos os gatos foram pesados em balança com a mesma calibragem. A ocorrência de vômito, melena ou hematoquezia foram monitorados diariamente. Relativamente à consistência das fezes, utilizou-se um sistema de pontuação para gatos descrito na literatura (GERMAN et al., 2017) (Tabela 1).

Tabela 1 – Sistema de pontuação fecal utilizado

Escore fecal	Descrição
1	Fezes líquidas ou aquosas
2	Maioria das fezes formadas na forma de agregados moles
3	Aproximadamente 50% das fezes de consistência normal e 50% de consistência amolecida
4	Aproximadamente 75% das fezes de consistência normal com pequena quantidade de consistência amolecida
5	Todo conteúdo fecal apresentando consistência normal
6	Pedaços de fezes pequenos e endurecidos

2.4 Exames hematológicos e ultrassonográficos

Para realização de exames hematológicos, foram coletados 5 mL de sangue da veia jugular para avaliação hematológica (hematócrito, hemoglobina, plaquetas, leucograma e proteína total) e bioquímica sérica [albumina, alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FA), gama-glutamil transferase (GGT), bilirrubina total, ureia, creatinina, colesterol, lactato, glicose, sódio e potássio.

Para a realização das análises sanguíneas foram utilizados analisadores hematológicos (pochH-100iv Diff, Sysmex, Brasil) e bioquímicos (CM 250, Wiener Lab Group, Brasil) automáticos. Foram determinados por dispositivos portáteis os níveis de lactato (Accutrend Plus®, Roche, Brasil) e glicose (Accu-Check®, Roche, Brasil). As concentrações de sódio e potássio foram mensuradas usando um analisador de eletrólitos (EasyLite, Grupo Kovalent, Brasil).

Exames de ultrassonografia abdominal completa (USA) foram realizados em todos os gatos. Durante a ultrassonografia, realizou-se a coleta de 5 mL de urina por cistocentese. A urina fresca foi utilizada para determinação da relação entre proteína e creatinina na urina (UPC), densidade e pH urinários. Todas as USAs foram realizadas pelo mesmo examinador, que desconhecia os momentos da avaliação (antes ou após instilação de TC). A densidade específica da urina foi medida por refratometria (Atago Refractometer®). O pH da urina e demais parâmetros químicos foram avaliados por meio de tiras reagentes (Combur10 Test UX, Roche, Brasil) e registrados em leitor específico (Urisys 1100®, Roche®, Brasil).

3.5 Tempo de sangramento (TS)

Devido à dificuldade de avaliação da mucosa oral em gatos conscientes, o tempo de sangramento (TS) foi medido através da punção de uma veia na superfície externa da orelha com agulha 22G (Descarpac®, SP, Brasil) (BRONDANI et al., 2009). Papel absorvente (Papel-filtro Whatman®, Darmstadt, Alemanha) foi utilizado apenas para absorver o sangue sem aplicar pressão no local da punção. O tempo desde a punção até a cessação do sangramento foi medido por de um cronômetro. O TS foi realizado 24 horas antes e 15 dias após o tratamento e a interpretação do TS foi feita de forma cega. O mesmo observador realizou todos os TS sem conhecimento prévio do período em questão.

3.6 Sangue oculto nas fezes (SOF)

As amostras de fezes utilizadas para detecção de sangue oculto fecal (SOF) foram obtidas por meio de coletas nas caixas sanitárias dos gatos, previamente antes do início dos procedimentos invasivos de cada período. Todos os gatos receberam tratamento com vermífugo de 0,5 mL/kg, em suspensão oral, contendo fenbendazol, pirantel e praziquantel (Vetmax Plus Suspensão®, Vetnil, SP, Brasil) uma semana antes do estudo e foi realizado exame coproparasitológico para certificar a ausência de parasitas intestinais.

A ocorrência de SOF foi determinada pela detecção visual de quimioluminescência com luminol (Luminol Cas No. 521-31-3 - Sigma-Aldrich®, Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha) (PARK & TSUNODA, 2018). Sangue puro de gato e fezes misturadas com sangue foram utilizadas como controles positivos. Também foi testada a interferência da ração e da areia da caixa do gato, na reação do luminol.

Antes da coleta de fezes para determinação do SOF basal, os gatos foram aclimatados a uma dieta regular seca para gatos adultos (Golden Gatos®, Premier Pet®, SP, Brasil) por 3 dias. A solução a ser utilizada no teste de SOF foi preparada misturando-se hidróxido de sódio, peróxido de hidrogênio, luminol (300µL), água deionizada-destilada e fezes (1 mg/mL) (PARK & TSUNODA, 2018). A interpretação do teste de SOF pelo luminol foi realizada de forma cega, sendo a reação observada imediatamente em um sistema de campo escuro. Tubos com fezes que se tornassem azul fluorescentes logo após a introdução do luminol foram considerados positivos.

3.7 Análise estatística

O tamanho da amostra foi determinado com uma taxa de erro alfa de 5% e poder de 80% com base em desvios padrão e valores limites de equivalência para parâmetros hematológicos e bioquímicos detectados em estudos publicados anteriormente que usaram quatro a seis gatos/grupo para determinação da tolerância sistêmica a AINEs tópicos (HSU *et al.*, 2015; LANUZA *et al.*, 2016). O tamanho amostral calculado como ideal foi determinado como sendo igual ou maior que 7 gatos (www.sealedenvelope.com).

O teste de Shapiro-Wilk foi utilizado para avaliar a normalidade dos dados. Os parâmetros clínicos, o TS e todas as variáveis medidas no sangue foram comparados

usando um teste t pareado para avaliar possíveis diferenças nos valores observados no dia 15 em comparação com os valores basais. A avaliação da positividade do teste SOF foi determinada pelo teste exato de Fisher. As diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$ (Prism 4.0-GraphPad Software inc, Califórnia, EUA). Os dados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão.

4 RESULTADOS

No período basal, o peso corporal, os parâmetros cardíaco e respiratório, pressão sanguínea média não se alteraram e se mantiveram dentro dos valores de referência para a espécie felina (Tabela 2). Ademais, não foi constatado em nenhum dia a ocorrência de vômito, alterações fecais como melena, hematoquezia ou diarreia, como também a hidratação e o consumo de ração se mantiveram dentro da normalidade. Em todos os gatos o escore fecal obtido no período basal, assim como após o tratamento com TC foi 5 ($p = 1,00$).

Tabela 2 – Média $\pm$ desvio padrão dos parâmetros clínicos em gatos no período basal e depois da instilação de trometamol cetorolaco a 0,4% por 15 dias

	Referência	Basal	15 dias após tratamento	p
Peso corporal (kg)	2 - 5	3,41 $\pm$ 0,63	3,48 $\pm$ 0,61	0,33
Frequência respiratória (BPM)	16 - 40	40,60 $\pm$ 10,91	35,87 $\pm$ 9,92	0,05
Frequência cardíaca (BPM)	120 - 220	139,9 $\pm$ 24,16	132,3 $\pm$ 21,19	0,39
Pressão arterial média (mmHg)	85 - 120	108,9 $\pm$ 7,52	108,1 $\pm$ 15,95	0,81
Consumo diário de ração (g)	15g/kg	55,2 $\pm$ 8,33	55,33 $\pm$ 8,32	0,95

Durante o momento basal, o hemograma, os valores bioquímicos séricos e os de urinálise estavam dentro dos limites de referência (Tabelas 3 a 5). No dia 15, foram observadas reduções significativas no hematócrito ($p = 0,03$), proteína total ($p = 0,02$) e no potássio ($p = 0,004$) (Tabelas 3 e 4). Apesar dessas alterações, todas as medidas permaneceram dentro dos limites de referência, exceto a ALT, que aumentou significativamente quando comparada aos valores basais ($p = 0,01$) (Tabela 4).

Tabela 3 – Média $\pm$ desvio padrão do hemograma em gatos no período basal e depois da instilação de trometamol cetorolaco a 0,4% por 15 dias

	Referência	Basal	15 dias após tratamento	p
Eritrócitos ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	6,9 – 10,1	8,83 $\pm$ 1,25	8,20 $\pm$ 1,26	0,11

	Referência	Basal	15 dias após tratamento	p
Hemoglobina (g/dL)	8,0 – 15	12,54 ± 1,69	11,43 ± 1,927	0,07
Hematócrito (%)	24 – 45	39,07 ± 4,87	33,47 ± 8,28	0,03
Leucócitos totais (x10 ³ /μL)	5,5 – 19,5	13,10 ± 5,27	10,12 ± 4,33	0,06
Plaquetas (x10 ³ /μL)	300 - 800	392,9 ± 103,1	387,4 ± 69,05	0,74

Tabela 4 – Média ± desvio padrão do perfil bioquímico sérico em gatos no período basal e depois da instilação de trometamol cetorolaco a 0,4% por 15 dias

	Referência	Basal	15 dias após tratamento	p
Proteína total (g/dL)	6,6 – 8,4	7,72 ± 0,64	7,22 ± 0,70	0,02
Albumina (g/dL)	3,2 – 4,3	3,40 ± 0,23	3,32 ± 0,21	0,23
Globulina (g/dL)	2,9 – 4,7	3,67 ± 0,75	3,50 ± 0,60	0,21
Fração albumina/globulina	0,8 – 1,5	0,93 ± 0,19	0,98 ± 0,21	0,34
ALT (UI/L)	6,0 - 83	63,13 ± 24,62	103,0 ± 74,26	0,01
ALP (UI/L)	25 – 93	78,67 ± 21,29	75,00 ± 18,08	0,58
AST (UI/L)	7,0 - 43	17,47 ± 12,24	23,20 ± 19,05	0,26
GGT (UI/L)	0,0 - 15	10,26 ± 1,93	10,14 ± 2,21	0,84
Bilirrubina total (mg/dL)	0 – 0,2	0,06 ± 0,10	0,11 ± 0,18	0,46
Bilirrubina direta (mg/dL)	0,0	0,0	0,0	-
Bilirrubina indireta (mg/dL)	0,0 – 0,1	0,06 ± 0,10	0,11 ± 0,18	0,34
Colesterol (mg/dL)	71 - 156	100,4 ± 11,56	109,4 ± 17,18	0,06
Glicose (mg/dL)	71 - 182	87,67 ± 11,78	87,40 ± 8,74	0,93
Ureia (mg/dL)	42,8 – 64,2	50,87 ± 6,20	54,07 ± 7,26	0,33

	Referência	Basal	15 dias após tratamento	p
Creatinina (mg/dL)	0,8 – 1,8	1,20 ± 0,20	1,21 ± 0,16	0,90
Lactato (mmol/L)	2,0 – 4,1	4,04 ± 0,79	3,87 ± 0,92	0,56
Sódio (mEq/L)	141 – 154	149,3 ± 5,17	148 ± 3,67	0,26
Potássio (mEq/L)	3,0 – 5,0	4,70 ± 0,60	4,28 ± 0,37	0,004

Tabela 5 – Média ± desvio padrão dos parâmetros do perfil urinário em gatos no período basal e depois da instilação de trometamol cetorolaco a 0,4% por 15 dias

	Referência	Basal	15 dias após tratamento	p
Densidade urinária	1,020 – 1,060	1,057 ± 12,59	1,050 ± 14,87	0,14
pH urinário	5,0 – 7,0	6,10 ± 0,89	5,90 ± 0,38	0,41
UPC	< 0,20	0,19 ± 0,12	0,19 ± 0,11	0,89

O tempo de sangramento avaliado no início do estudo ($133,5 \pm 61,33$ segundos) foi significativamente maior ($p = 0,03$) do que o registrado no dia 15 ($102,1 \pm 32,76$ segundos).

O sangue puro, assim como o sangue misturado nas fezes, teve resultado positivo na reação controle do luminol. No início do estudo, todas as 15 amostras apresentaram resultados negativos para o teste de SOF. No entanto, no 15 após o tratamento com TC, 11 das 15 amostras testaram positivo ($p < 0,0001$) para o SOF ao teste do luminol (Figura 1).

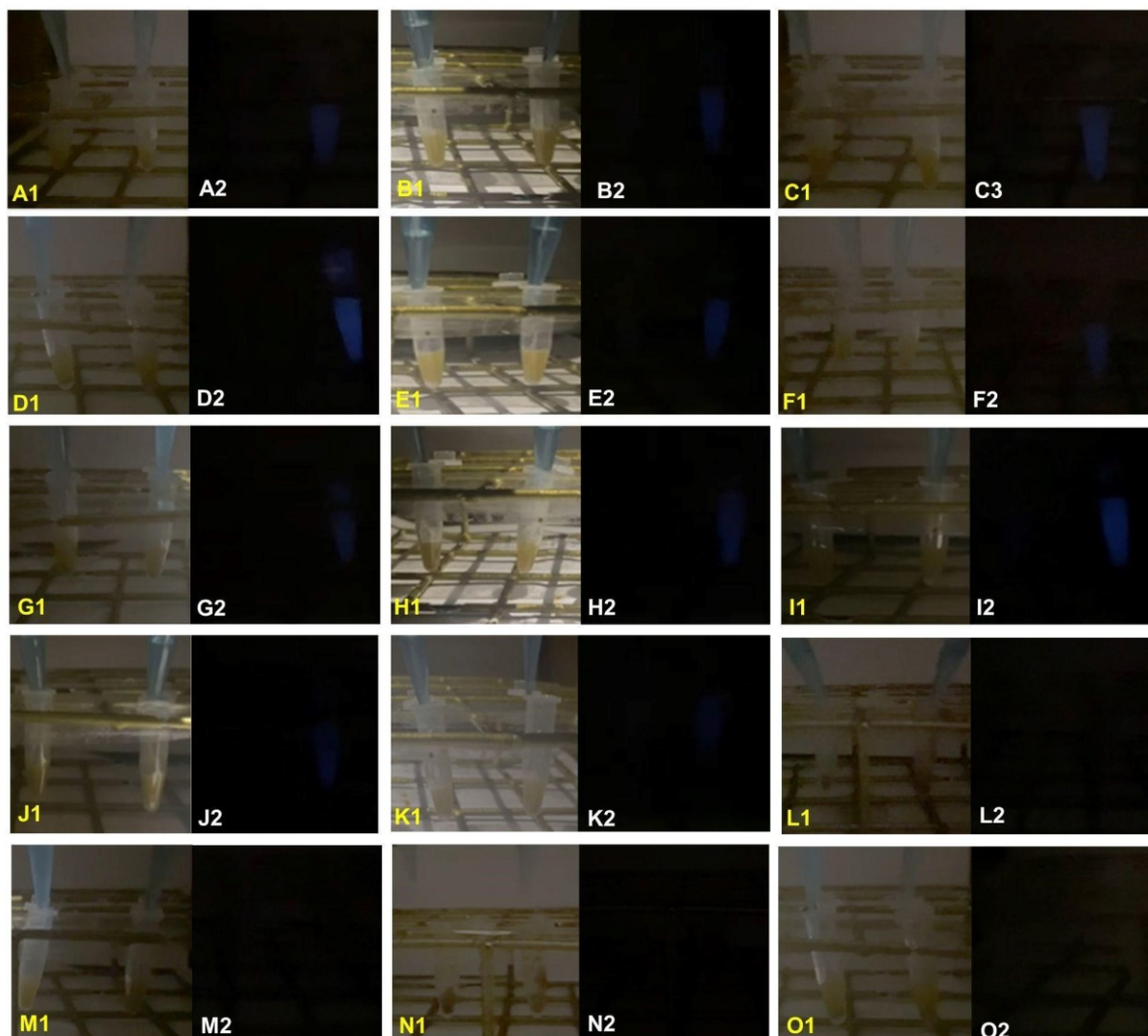


Figura 1 – Sequência ilustrando a detecção de sangue oculto nas fezes pela reação ao luminol em 15 gatos. Da Figura A a O, o frasco à esquerda (1) de cada figura representa amostras fecais coletadas no início do estudo. Os frascos do lado direito (2) de cada figura representam amostras fecais coletadas 15 dias após a administração de trometamol cetorolaco tópico em gatos. Amostras fecais positivas (de A até K) apresentaram fluorescência azul após a adição de luminol.

Pela ultrassonografia abdominal, as vias biliares e a vesícula biliar não apresentaram conteúdo anecogênico imóvel e a ecotextura e vascularização hepáticas foram consideradas normais. Igualmente, não se constatarem alterações nas espessuras das paredes do estômago e dos intestinos delgado e grosso, ambos demonstrando conteúdo de forma normal, às vezes com pouco gás (4 animais). A parede da bexiga urinária não estava espessada e aparentava estar repleta por urina. Ademais, não se observou presença de líquido livre na cavidade abdominal.

5 DISCUSSÃO

Este é o primeiro estudo que avaliou a possibilidade de efeitos adversos em gatos tratados com solução oftálmica de TC. Embora a absorção sistêmica do TC não ter sido avaliada no presente estudo, acredita-se que a mesma tenha ocorrido, pois dois estudos foram capazes de detectar o diclofenaco no plasma de gatos saudáveis, desde os primeiros cinco minutos da sua administração oftálmica (HSU *et al.*, 2015). Em outro estudo também realizado em gatos, o flurbiprofeno e o diclofenaco foram detectados desde a quantificação sanguínea inicial, que ocorreu quatro dias após a primeira instilação, até 48 horas após o término dos tratamentos (LANUZA *et al.*, 2016). Nesses dois estudos realizados em gatos, o nível sérico de ambos os AINEs demonstraram efeito cumulativo no sangue desde a primeira até a última avaliação.

Em estudos anteriores realizados em cães e gatos, a instilação tópica de diclofenaco, flurbiprofeno e TC não tiveram um impacto clinicamente relevante na função renal, conforme mensurado pelos parâmetros da ureia sérica, creatinina, densidade urinária e a relação UPC (HSU *et al.*, 2015; LANUZA *et al.*, 2016; ARAÚJO *et al.*, 2024). No entanto, em um desses estudos, Hsu *et al.* (2015) relataram que gatos tratados com diclofenaco apresentaram taxa de filtração glomerular significativamente menor, presumivelmente associada à hipovolemia iatrogênica.

Araújo *et al.* (2024) também relataram um aumento nos níveis séricos de creatinina, decorridos 15 e 30 dias da instilação de TC (duas vezes ao dia) em cães. Todavia, em nosso estudo, a concentração sérica de creatinina permaneceu dentro dos valores de referência. No presente estudo, a administração de TC por três vezes ao dia por 15 dias consecutivos não ensejou a ocorrência de vômito, queda de consumo de ração, perda de peso, hematoquezia ou melena.

Os resultados aqui apresentados são similares a outro estudo experimental anterior, que avaliou a instilação de diclofenaco tópico por 7 dias em gatos saudáveis (HSU *et al.*, 2015). Entretanto, ao final de 15 dias de tratamento com TC, pelo teste de SOF, detectou-se micro sangramento gastrointestinal em 73% dos gatos do presente estudo. A investigação de SOF é importante em pacientes felinos, pois a doença gastrointestinal pode permanecer subclínica por um tempo, fazendo com que a melena e a hematoquezia passem despercebidos por um cuidador ou pelo médico veterinário, principalmente pelo comportamento de cobrir as fezes com areia (PARK & TSUNODA, 2018).

Um estudo retrospectivo relatou que a incidência de sangramento gastrointestinal em cães que receberam tratamento oftálmico com diclofenaco, flurbiprofeno ou TC tópicos foi comparável com cães que receberam AINEs ou glicocorticoides de forma sistêmica (VAN VERTLOO *et al.*, 2023). Ademais, nesse mesmo estudo, foi revelado que os episódios de sangramento gastrointestinal foram mais comuns em cães que receberam TC tópico, quando comparado aos cães que receberam diclofenaco ou flurbiprofeno tópico (VAN VERTLOO *et al.*, 2023). Entretanto, os autores desse estudo clínico não mencionaram o tempo decorrido entre o início do tratamento tópico e a ocorrência de SOF positivo (VAN VERTLOO *et al.*, 2023). Além disso, os autores também não relataram qual foi o teste utilizado para detecção de SOF.

Kits comerciais à base de guaiaco são utilizados frequentemente em gatos para detecção de SOF, após os indivíduos terem se aclimatado a rações secas com proteína hidrolisada e/ou gastroentérica especial (RUDINSKY *et al.*, 2017; SPIES & SLOVAK, 2020). No teste de guaiaco, a reação é baseada na oxidação do guaiaco pelo peróxido de hidrogênio, que é catalisado pela atividade semelhante à peroxidase da hemoglobina (Hb) (RUDINSKY *et al.*, 2017; SPIES & SLOVAK, 2020; SELBY *et al.*, 2017). Em gatos, o limite inferior de detecção para o teste comercial de guaiaco é de 15 mg/kg de hemoglobina nas fezes (RUDINSKY *et al.*, 2017).

No teste de luminol, ocorre oxidação do substrato pela atividade semelhante à peroxidase da Hb, em que os reagentes de luminol emitem quimiluminescência branco-azulada visível em campo escuro (PARK & TSUNODA, 2018), sendo o limite inferior de detecção 20 ng de Hb por 5 µg de fezes/camundongo (PARK & TSUNODA, 2018). Em ambos os métodos, a reação envolve catálise pela atividade semelhante à peroxidase da hemoglobina. Reportou-se que humanos e cães alimentados com dietas contendo carne vermelha, peroxidases vegetais e fígado apresentam comprovadamente resultados falso-positivos no teste de SOF (SELBY *et al.*, 2017; COOK *et al.*, 1992). Não obstante, não existem estudos anteriores em animais e humanos que descrevem a necessidade de adaptação prévia da dieta antes da realização do teste de luminol para detecção de SOF.

No presente estudo, os gatos foram alimentados com dieta regular para gatos que incluía polpa de beterraba desidratada, além de farinha de carne e de vísceras de frango em sua formulação. Portanto, ainda que, 11 dos 15 testes FOB positivos possam completamente terem sido resultado de nossa dieta seca regular (Golden

Gatos®, Premier Pet®, SP, Brasil), esta hipótese, no entanto, pode ser descartada, pois todas as amostras de fezes testaram negativo após um período de adaptação de três dias à mesma dieta. No presente estudo, utilizou-se o teste de reação de luminol para detectar SOF devido à indisponibilidade de *kits* comerciais à base de guaiaco em nosso país.

O teste de luminol é utilizado em perícias para detectar sangue na cena do crime e já foi testado para detectar SOF em um modelo de úlcera intestinal induzida por indometacina em camundongos (PARK & TSUNODA, 2018). O método original descrito por Park e Tsunoda (2018) provou ser simples, rápido, econômico e eficiente para detecção de SOF em fezes de gatos. Outra vantagem descrita pelos autores é que o congelamento das fezes não induz alterações no resultado do exame. Todavia, são necessários mais estudos comparando a sensibilidade do teste SOF comercial à base de guaiaco com o teste de luminol para detectar SOF em fezes de gato, uma vez que o limite inferior de Hb em fezes de gato não foi determinado. Além disso, os efeitos de diferentes dietas, incluindo opções regulares, gastrointestinais e com proteínas hidrolisadas, devem ser testados para verificar se o conteúdo do alimento não induz um falso FOB positivo quando um teste de luminol é usado.

Embora, em nosso estudo, os valores de hematócrito tenham permanecido dentro dos limites de referência após a última avaliação, este parâmetro diminuiu significativamente (14,33%) em relação aos valores basais. Esta informação também pode sugerir perda sanguínea, conforme demonstrado pelo teste de SOF positivo em 73% dos gatos do presente estudo. No estudo de Carroll *et al.* (2005), os valores de hematócrito dos gatos também foram significativamente menores 24 horas após uma dose única de meloxicam subcutâneo. No entanto, os resultados aqui apresentados não podem ser diretamente comparados com os de Carroll *et al.* (2005), haja vista que os gatos daquele estudo foram submetidos a cirurgia.

O tempo de sangramento (TS) é um teste ambulatorial para avaliação *in vivo* da hemostasia primária (CARROLL *et al.*, 2005; BRONDANI *et al.*, 2009; ALATZAS *et al.*, 2014). Desde que a contagem de plaquetas seja adequada, espera-se que o TS seja prolongado na presença de defeitos plaquetários herdados ou adquiridos ou quando ocorrer comprometimento vascular (CARROLL *et al.*, 2005; BRONDANI *et al.*, 2009; ALATZAS *et al.*, 2014; SPOWART *et al.*, 1988; CONRAD *et al.*, 1988; GREER, 1990). A hemostasia primária é mediada pela interação entre o endotélio vascular e as plaquetas, onde os efeitos pró-agregação e vasoconstrição do tromboxano A₂ são

equilibrados pelos efeitos anti-agregadores, seguidos por vasodilatação induzida pela prostaglandina I₂ e o óxido nítrico derivado do endotélio vascular (GIULIANO, 2004, MCLEAN & KHAN, 2018, FALCINELLI *et al.*, 2019).

Limites de referência para o tempo de sangramento da mucosa oral (TSMO) foram publicados em gatos sedados com combinação de cetamina, dexmedetomidina e morfina, além de demonstraram que os valores do TSMO variaram de 34 a 105 segundos, com diferença de até 87 segundos entre duas leituras consecutivas para um mesmo gato (ALATZAS *et al.*, 2014). No presente estudo, os valores do TS variaram de 60 a 280 segundos, e optou-se por realizar o TS em uma veia localizada na superfície externa da orelha devido às dificuldades associadas à avaliação da mucosa oral em gatos conscientes.

Brondani *et al.* (2009) também utilizaram a orelha como local para realização do TS em gatos conscientes, com resultados variando de 32 a 81 segundos. Os TS obtidos no basal e após o tratamento registrados no presente estudo foram muito mais longos do que aqueles relatados anteriormente em gatos conscientes, que também usaram a orelha como local para realizar o teste (BRONDANI *et al.*, 2009). No estudo de Brondani *et al.* (2009), o vedaprofeno não inibiu a agregação plaquetária ou modificou o TS até 52 horas após sua administração oral. Outros estudos realizados em gatos também mostraram que o TSMO não se alterou 24 e 48 horas após a administração parenteral de meloxicam ou firocoxibe, respectivamente (CARROLL *et al.*, 2005; PHUWAPATTANACHART *et al.*, 2017).

Em humanos conscientes ou anestesiados, a administração parenteral de TC prolonga a TS e inibe a agregação e a produção de tromboxano plaquetário (SPOWART *et al.*, 1988; CONRAD *et al.*, 1988, GREER, 1990). Um estudo *in vitro* conduzido em humanos tratados com soluções oftálmicas reportou que a indometacina, mas não o diclofenaco, induziu inibição da agregação plaquetária (FALCINELLI *et al.*, 2019). No entanto, não existem estudos que descrevam os efeitos do TC quando utilizado como colírio no painel de coagulação em nenhuma espécie. No presente estudo, observou-se que o TS foi significativamente mais curto decorridos os dias do tratamento com TC. Curiosamente, tais alterações ocorreram na direção oposta ao que se espera após a administração de AINEs relativamente aos distúrbios da coagulação. Considerando que em nosso estudo, a contagem de plaquetas não se alterou entre os períodos, tal diferença no TS não pode ser atribuída à instilação de TC. Portanto, mais estudos são necessários para certificar os achados aqui

apresentados. Estudos anteriores realizados em gatos e cães que avaliaram possíveis efeitos adversos sistêmicos oriundos da instilação de AINEs, não avaliaram o TS ou testes como agregação plaquetária e produção de tromboxano plaquetário (HSU *et al.*, 2015; LANUZA *et al.*, 2016; VAN VERTLOO *et al.*, 2023, ARAÚJO *et al.*, 2024).

A principal via de metabolismo e excreção de AINEs ocorre pela via da glicuronidação hepática e, em comparação com outros mamíferos, os gatos apresentam capacidade reduzida desta via após a administração de medicamentos (MCLEAN & KHAN, 2018). Reconhece-se que os gatos domésticos possuem menos isoformas hepáticas da UDP-glucuronosil transferase (MCLEAN & KHAN, 2018). Em humanos, quando o TC é administrado por via parenteral, ele é eliminado de forma intacta, principalmente por excreção renal (CONRAD *et al.*, 1988; GREER *et al.*, 1990). Em gatos anestesiados, a depuração de uma única dose intravenosa de TC é baixa (56,8, DP: 33,1 mL/hora/kg) (VILLA *et al.*, 2015). Um outro estudo demonstrou que a farmacocinética do TC não foi alterada em ratos com cirrose hepática induzida (RIVERA-ESPINOSA *et al.*, 2003). As informações descritas acima pelo menos sugerem que, mesmo em situação de lesão hepática aguda, a eliminação do TC ainda ocorre (GREER *et al.*, 1990; VILLA *et al.*, 2015). Assim, a elevação significativa da ALT supostamente não influenciou na eliminação do TC absorvido no presente estudo. Entretanto, são necessárias mais investigações, haja vista que a via metabólica do TC sistêmica e tópica ainda não foi determinada em gatos.

Em geral, as enzimas hepáticas ALT, AST e GGT são indicadores sensíveis de doença ou lesão hepática, porém, as mesmas não oferecem qualquer indicação precisa da funcionalidade hepática (JOHNSTON, 2017). Em gatos, contudo, mesmo um pequeno aumento na ALT pode estar correlacionado como um indicador em possíveis lesões hepáticas, já que isso ocorre pois a meia-vida sérica desta enzima é baixa (JOHNSTON, 2017). No presente estudo, observou-se aumento significativo nos níveis de ALT 15 dias após o tratamento com TC.

Em gatos, considera-se que a elevação sérica da ALT poder ser correlacionado na detecção de possíveis oclusão extra-hepática do ducto biliar e colangite/colangiohepatite. Todavia, essa enzima se eleva mais comumente em doenças necroinflamatórias (JOHNSTON, 2017). Nesse contexto, as ultrassonografias realizadas durante a seleção e após o tratamento com TC descartam as hipóteses de anormalidade de biliar em nossos gatos. Portanto, apesar da ausência de alterações no consumo alimentar, icterícia, vômitos e outros exames bioquímicos

relacionados à função hepática, a elevação significativa da ALT sugere lesão hepática inflamatória inicial induzida pela absorção sistêmica de TC. Os resultados aqui apresentados contrastam com os de outros estudos experimentais realizados em gatos, nos quais a administração parenteral e tópica de AINEs não induziram lesão hepatocelular aguda (BRONDANI *et al.*, 2009; PHUWAPATTANACHART *et al.*, 2017; HSU *et al.*, 2015). No cenário clínico, não há evidências que estabeleçam causalidade entre formas tópicas de AINEs e distúrbios das enzimas hepáticas, sendo que apenas três casos foram relatados na literatura humana (DANIELS *et al.*, 2018; YERLY & SEREDA, 2008, DELUNGAHAWATTA *et al.*, 2023).

A pan-hipoproteïnemia é observada após um quadro de hemorragia e é uma característica típica da perda de proteínas do espaço vascular devido à vasculite, pleurite, peritonite ou enteropatias com perda de proteínas (BURTON, 2017). A diminuição da produção de albumina também ocorre na insuficiência hepática devido a anomalias vasculares, como desvios portossistêmicos ou de doença parenquimatosa hepática avançada (BURTON, 2017).

Embora os níveis de proteína total (PT) tenham permanecido dentro dos limites de referência ao longo do estudo, valores ligeiramente mais baixos, mas com significância estatística, foram detectados 15 dias após a instilação de TC. Ligeiras diminuições nos níveis de albumina e globulina também foram observadas no mesmo momento, mas a significância estatística não foi alcançada. Embora tais achados não sejam clinicamente importantes, o declínio sutil dos níveis de PT e de albumina podem estar correlacionados com a perda sanguínea microscópica, conforme observado pela SOF em 11/15 gatos.

No presente estudo, os níveis de potássio também permaneceram dentro do limite de referência em ambas as avaliações. Porém, detectou-se uma discreta redução, ainda que significativa, 15 dias após a instilação do TC. Diminuição da ingestão alimentar, translocação excessiva ou anormal entre os fluidos extra e intracelulares e/ou a perda excessiva pelos rins ou do sistema gastrointestinal são as causas da redução dos níveis desse eletrólito (MAGGIORE, 2017). Embora essa redução nos níveis de potássio não seja clinicamente importante, tal redução também pode estar relacionada à perda gastrointestinal microscópica, conforme observado pela SOF.

Os autores assumem que o presente estudo apresenta limitações que incluem não avaliar os mesmos parâmetros em um grupo controle e não testar a influência de

diferentes dietas no teste SOF pelo luminol. Portanto, nossos resultados devem ser interpretados com cautela até que novos estudos, contendo um grupo controle, sejam realizados. Apesar de suas limitações, este estudo certamente enfatiza que os veterinários devem ter cautela ao prescrever TC por longos períodos para gatos.

6 CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou que a instilação de TC três vezes ao dia, por 15 dias consecutivos, induziu lesão hepatocelular e sangramento gastrointestinal, com possíveis repercussões nos níveis de hematócrito, proteína total e potássio em gatos saudáveis. No entanto, tais resultados devem ser interpretados com cautela, devido à ausência de grupo controle no presente estudo.

REFERÊNCIAS

- ADRIANTO, M. F., ANNURYANTI, F., WILSON, C. G., SHESHALA R., THAKUR, R. S. In vitro dissolution testing models of ocular implants for posterior segment drug delivery. **Drug Delivery and Translational Research**, v. 12, n. 6, p. 1355-1375, 2022.
- ACIERNO, M. J., BROWN, S., COLEMAN, A. E., JEPSON, R. E., PAPICH, M., STEPIEN, R. L., SYME, H. M. ACVIM consensus statement: guidelines for the identification, evaluation, and management of systemic hypertension in dogs and cats. **Journal of Japanese Association of Veterinary Nephrology And Urology**, v. 12, n. 1, p. 30-49, 2020.
- ALATZAS, D. G., MYLONAKIS, M. E., KAZAKOS, G. M., KOSTOULAS, P., KRITSEPI-KONSTANTINOOU, M., POLIZOPOULOU, Z. S. Reference values and repeatability of buccal mucosal bleeding time in healthy sedated cats. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v.16, n.2, p.144-148, 2014.
- ALHOUAYEK, M., MUCCIOLI, G. G. COX-2-derived endocannabinoid metabolites as novel inflammatory mediators. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 35, n. 6, p. 284-292, 2014.
- ANAND-APTE B., HOLLYFIELD, J. G. Developmental Anatomy of the Retinal and Choroidal Vasculature. In: Darlene A. D. **Encyclopedia of the Eye**, 1.ed. Missouri: Elsevier, p. 9-15, 2010.
- ARAÚJO, D. S. A., RIBEIRO, A.P., NARDES, E. R. S., LOPES, D., NUNES, E. Effects of trometamol ketorolac eye drops on blood count, serum biochemistry, and urinalysis in healthy dogs. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, (prelo) 2024.
- BAILEY, K., WEBB, T. Retrospective Study of Long-Term Outcome of Phacoemulsification in 22 Feline Eyes with Presumed Congenital/Juvenile Cataracts (2007-2020). **Journal of American Animal Hospital Association**, v. 58, n. 3, p. 121-128, 2022.
- BHATTACHERJEE, P., SMITHSON, M., PATERSON, C. A. Generation second messengers by prostanoids in the iris-sphincter and ciliary muscles of cows, cats and humans. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 56, n. 6, p. 443-449, 1997.
- BRONDANI, J. T., LUNA, S. P., MARCELLO, G. C., PADOVANI, C. R. Perioperative administration of vedaprofen, tramadol or their combination does not interfere with platelet aggregation, bleeding time and biochemical variables in cats. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 11, n. 6, p. 503-509, 2009.
- BURTON, S. Hypoproteinemia, hyperproteinemia. In: Ettinger SJ, Feldman EC, Etienne C. **Textbook Of Veterinary Internal Medicine: Diseases of the Dog and Cat**. 8ed. Missouri: Elsevier, p. 765-770, 2017.

CARROLL, G. L., HOWE, L. B., PETERSON, K. D. Analgesic efficacy of preoperative administration of meloxicam or butorphanol in onychectomized cats. **Journal of American Veterinary Medicine Association**, v. 226, n. 6, p. 913-919, 2005.

CHANDRASEKHARAN, N. V., DAI, H., ROOS, K. L. T., EVANSON, N. K., TOMSIK, J., ELTON, T. S., SIMMONS, D. L. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 99, n. 21, p. 13926-13931, 2002.

CHAVKIN, M. J., LAPPIN, M. R., POWELL, C. C., ROBERTS, S. M., PARSHALL, C. J., REIF, J. S. Seroepidemiologic and clinical observations of 93 cases of uveitis in cats. **Progress in Veterinary and Comparative Ophthalmology**, v. 2, n. 1, p. 29-36, 1992.

CONRAD, K. A., FAGAN, T. C., MACKIE, M. J., MAYSHAR, P. V. Effects of ketorolac tromethamine on hemostasis in volunteers. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, v. 43, n. 5, p. 542-546, 1988.

COOK A. K., GILSON S. D., FISCHER, W.D., KASS, P. H. Effect of diet on results obtained by use of two commercial test kits for detection of occult blood in feces of dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 53, n. 10, p. 1749-1751, 1992

DANIELS, A. M., GIBBS, L. M., HERNDON, C. M. Elevated transaminases with topical diclofenac: a case report. **Journal of Pain & Palliative Care Pharmacotherapy**, v. 32n. 2, p. 161-164, 2018.

DAVIS, H., JENSEN, T., JOHNSON, A; KNOWLES, P., MEYER, R., RUCINSKY, R., SHAFFORD, H. 2013 AAHA/AAFP fluid therapy guidelines for dogs and cats. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 49, n. 3, p. 149-159, 2013.

DELUNGAHAWATTA, T., POKHAREL, A., PAZ, R., HAAS, C.J. Topical Diclofenac-Induced Hepatotoxicity. **Journal of Community Hospital Internal Medicine Perspectives**, v. 13, n. 3, p. 108-112, 2023.

DOBBERSTEIN, R. E. A., OBLAK, M. L., BRISSON, B. A., SINGH, A., MOENS, N. M. M., AYOUB, S. Primary repair of nonsteroidal anti-inflammatory drug-associated full thickness gastrointestinal ulcers in 11 dogs. **Veterinary Surgery**, v. 51, n. 7, p. 1096-1105, 2022.

DONNENFELD, E. D., NICHAMIN, L. D., HARDTEN, D. R., RAIZMAN, M. B., TRATTLER, W., RAJPAL, R. K., ALPERN, L. M., FELIX, C., BRADFORD, R. R., VILLANUEVA, L., HOLLANDER, D. A., SCHIFFMAN, R. M. Twice-daily, preservative-free ketorolac 0.45% for treatment of inflammation and pain after cataract surgery. **American Journal of Ophthalmology**, v. 151, n. 3, p. 420-426, 2011.

EDIN, M. L., CHENG, J., GRUZDEV, A., HOOPES, S. L., & ZELDIN, D. C. P450 enzymes in lipid oxidation. In: Montellano P. R. O. **Cytochrome P450: Structure, Mechanism, and Biochemistry**, Berlin: Springer, p. 881-905, 2015.

EVANS, J. M. M., MCMAHON, A. D., MCGILCHRIST, M. M., WHITE, G., MURRAY, F.E., MCDEVITT, D. G., MACDONALD, T. M. Topical non-steroidal anti-inflammatory drugs and admission to hospital for upper gastrointestinal bleeding and perforation: a record linkage case-control study. **British Medical Journal**. v. 311, n. 6996, p. 22-26, 1995.

EWALD, M. M., RANKIN, A. J., MEEKINS, J. M., MAGNIN, G., KUKANICH, B. Prednisolone and dexamethasone are systemically absorbed after topical application of ophthalmic suspensions in healthy dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 83, n. 4, p. 339-348, 2022

FALCINELLI, E., IANNONE, A., MEZZASOMA, A. M., AMATO, L., FIERRO, T., GUGLIELMINI, G., CAGINI, C., GRESELE, P. Inhibition of platelet function after ocular administration of non-steroidal anti-inflammatory drugs. **Thrombosis Research**, v. 175, n. 1, p.1-5 2019.

FALCINELLI, E., IANNONE, A., MEZZASOMA, A. M., AMATO, L., FIERRO, T., GUGLIELMINI, G., CAGINI C, GRESELE P. Inhibition of platelet function after ocular administration of non-steroidal anti-inflammatory drugs. **Thrombosis Research**. v. 175, n. 1, p. 1-5, 2019.

FENOLLOSA-ROMERO, E., JEANES, E., FREITAS, I., ENACHE, A. E., LOCKHART, R., FLEMING, L., KNOTT, T.N.L., DAWSON, C., SMITH, K., BUSSE, C.. Outcome of phacoemulsification in 71 cats: A multicenter retrospective study (2006-2017). **Veterinary Ophthalmology**, v. 23, n. 1, p. 141-147, 2020 doi: 10.1111/vop.12699.

FOWLER C. J. The endocannabinoid system - current implications for drug development. **Journal of Internal Medicine**,. v. 290, n. 1, p. 2-26, 2021.

FOWLER, C. J. NSAIDs: eNdocannabinoid stimulating anti-inflammatory drugs?. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 33, n. 9, p. 468-473, 2012.

FOWLER, C. J., JANSON, U., JOHNSON, R. M., WAHLSTRÖM, G., STENSTRÖM, A., NORSTRÖM. K., TIGER, G. Inhibition of anandamide hydrolysis by the enantiomers of ibuprofen, ketorolac, and flurbiprofen. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 362, n. 2, p. 191-196, 1999.

FREDDO, T. F. Shifting the paradigm of the blood–aqueous barrier. **Experimental Eye Research**. v. 73, n. 5, p. 581-592, 2001.

GELATT, K. N., PLUMMER, C. Feline Ophthalmology. John Wiley & Sons, 2017. In: Gelatt, K. N., Plummer, C. E. **Color Atlas of Veterinary Ophthalmology**. Jersey: John Wiley & Sons, p. 237 - 284, 2017.

GEMENSKY, A., LORIMER, D., BLANCHARD, G. Feline uveitis: a retrospective study of 45 cases. In: **Annual Meeting of the American College of Veterinary Ophthalmologists**. p. 105-115, 1996.

GERMAN, A. C., CUNLIFFE N A, MORGAN K L. Faecal consistency and risk factors for diarrhoea and constipation in cats in UK rehoming shelters. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 19, n. 1, p. 57-65, 2017.

GIULIANO, E. A. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in veterinary ophthalmology. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 34 n. 3, p. 707-723, 2004.

GLAZE, M. B., MAGGS D. J., PLUMMER C. E. Feline Ophthalmology. In: GELATT, K. N. **Veterinary Ophthalmology**. Ames: John Wiley Inc., 6 ed., p. 1665-1840, 2021.

GRAHN, B. H., PEIFFER R. L. J. Veterinary Ophthalmic Pathology. In: GELATT, K. N. et al. **Veterinary Ophthalmology**. Ames: John Wiley Inc., 6 ed., p. 435-523, 2021.

GREER I. A. Effects of ketorolac tromethamine on hemostasis. **Pharmacotherapy**, v. 10 n. 6, p. 71-76, 1990.

GRIGGS, A. N, YAW, T. J., HAYNES, J. S., BEN-SHLOMO, G., TOFFLEMIRE, K. L., ALLBAUGH, R. A. Bioavailability and biochemical effects of diclofenac sodium 0.1% ophthalmic solution in the domestic chicken (*Gallus gallus domesticus*). **Veterinary Ophthalmology**, v. 20, n. 2, p. 171-176, 2017.

HANSEN, H. S., ARTMANN, A. Endocannabinoids and nutrition. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 20, p. 94-99, 2008.

HART, S., DENIZ, A., SOMMER, B., KIETZMANN, M., NOLTE, I. Effect of acetylsalicylic acid on platelet aggregation and capillary bleeding in healthy cats. **Dtsch Tierarztl Wochenschr**, v. 102 n.12, p. 476-480, 1995.

HSU, K. K., PINARD, C. L., JOHNSON, R. J., ALLEN, D. G., KUKANICH, B. K., NYKAMP, S. G. Systemic absorption and adverse ocular and systemic effects after topical ophthalmic administration of 0.1% diclofenac to healthy cats. **American Journal of Veterinary Research**, v. 76, n. 3, p. 253-65, 2015.

HUNT, J. R., DEAN, R. S., DAVIS, G. N., MURRELL, J. C. An analysis of the relative frequencies of reported adverse events associated with NSAID administration in dogs and cats in the United Kingdom. **Veterinary Journal**. v. 206, n. 2, p. 183-90, 2015.

IRIBARNE, M., TORBIDONI, V., JULIÁN, K., PRESTIFILIPPO, J. P., SINHA, D., RETTORI, V., BERRA, A., SUBURO, A. M. Cannabinoid receptors in conjunctival epithelium: identification and functional properties. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 49, n. 10, p. 4535-4544, 2008.

JOHNSTON, A. N. Liver Enzymes. In: In: ETTINGER, S. J., FELDMAN, E.C., ETIENNE, C. **Textbook of veterinary internal medicine: diseases of the dog and cat**. 8ed., Missouri: Elsevier, p. 793-802, 2017.

LAFRENIERE, J. D., SZCZESNIAK, A. M., COURTNEY, E., KELLY, M. E. M., FAKTOROVICH, E. G. Topical Analgesics for Acute Corneal Pain: Current Options and Emerging Therapeutics. **Journal of Cataract & Refractive Surgery**. 2023.

LANUZA, R., RANKIN, A. J., KUKANICH, B., MEEKINS, J. M. Evaluation of systemic absorption and renal effects of topical ophthalmic flurbiprofen and diclofenac in healthy cats. **Veterinary Ophthalmology**, v. 20, n. 4, p. 377, 2017.

LAPORTE, J. R., IBANEZ, L., VIDAL, X., VENDRELL, L., LEONE, R. Upper gastrointestinal bleeding associated with the use of NSAIDs: newer versus older agents. **Drug Safety**, v. 27, p. 411-420, 2004.

LICLICAN, E. L., GRONERT, K. Molecular circuits of resolution in the eye. **The Scientific World Journal**, v. 10, p. 1029-1047, 2010.

LUNA, S.P., BASÍLIO, A.C., STEAGALL, P.V., MACHADO, L.P., MOUTINHO, F.Q., TAKAHIRA, R.K., BRANDÃO, C.V. Evaluation of adverse effects of long-term oral administration of carprofen, etodolac, flunixin meglumine, ketoprofen, and meloxicam in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v.68, n.3, p.258-264, 2007.

MACA, S. M., AMON, M., FINDL, O., KAHRAMAN, G., BARISANI-ASENBAUER, T. Efficacy and tolerability of preservative-free and preserved diclofenac and preserved ketorolac eyedrops after cataract surgery. **American Journal of Ophthalmology**. v. 149, n. 5, p. 777-784, 2010.

MAGGS, D. J. Feline uveitis: An 'intraocular lymphadenopathy'. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v. 11, n. 3, p. 167-82, 2009.

MAGGS, D. J. Ocular Pharmacology and Therapeutics. In: MAGGS, D. J., MILLER, P. E., OFRI, R. **Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology**. St. Louis: Saunders. 2013, 27-59.5e.

MAROUN, F., RAIZMAN, M. Assessment of ocular reactions to dander in a cat room: efficacy of topical ketorolac and oral terfenadine. **Vision Research**, v.17, n.5, p. S98, 1995.

MCDUGLE, D.R., WATSON, J.E., ABDEEN, A.A., ADILI, R., CAPUTO, M.P., KRAPP, J.E., JOHNSON, R.W., KILIAN, K.A., HOLINSTADT, M., DAS, A. Anti-inflammatory ω -3 endocannabinoid epoxides. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 114 n. 30, p. 6034-6043, 2017.

MCLEAN, M.K., KHAN, S.A. Toxicology of frequently encountered nonsteroidal anti-inflammatory drugs in dogs and cats: an Update. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.48, n.6, p.969-984.

MILLER, P.E. UVEA. In: MAGGS, D. J., MILLER, P. E., OFRI, R. **Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology**. St. Louis: Saunders, 5 ed., p. 220-246, 2013.

MUÑOZ, J., NAVARRO, C., NORIEGA, V., PINARDI, G., SIERRALTA, F., PRIETO, J. C., MIRANDA, H. F. Synergism between COX-3 inhibitors in two animal models of pain. **Inflammopharmacology**, v. 18, p. 65-71, 2010.

OTSUKA, N., YATABA, I., MATSUSHITA, I., MATSUMOTO, H., HOSHINO, Y., TERADA, Y. A minimal impact of long-term S-flurbiprofen plaster application on kidney function in osteoarthritis patients. **Clinical and experimental nephrology**. v. 21, n. 6, p. 1060-1067, 2017.

PARK, A.M., TSUNODA, I. Forensic luminol reaction for detecting fecal occult blood in experimental mice. **Biotechniques**, v.65, n.4, p.227-230, 2018.

- PAULSEN, F.P., FÖGE, M., THALE, A.B., TILLMANN, B.N, MENTLEIN, R. Animal model for the absorption of lipophilic substances from tear fluid by the epithelium of the nasolacrimal ducts. **Investigative ophthalmology and visual science**. v. 43, n. 10, p. 3137-3143, 2002.
- PĂUNESCU, H., COMAN, O. A., COMAN, L., GHIȚĂ, I., GEORGESCU, S. R., DRĂIA, F., & FULGA, I. Cannabinoid system and cyclooxygenases inhibitors. **Journal of Medicine and Life**, v. 4, n. 1, p. 11, 2011.
- PEIFFER, R. L. J., WILCOCK, B. P. Histopathologic study of uveitis in cats: 139 cases (1978-1988). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 198, n. 1, p. 135-138, 1991.
- PEREIRA F. Q., SANTOS, B., CARBONI. T., BENDER, M., DRIEMEIER. D., CUNHA, A. C. B., BIAJOLI, M. G., MELLO, F. B., SILVA, P. R., PIGATTO, J. A. T., MELLO, J. R. B. Systemic absorption and adverse effects of topical ocular use of ketorolac tromethamine and sodium diclofenac in New Zealand rabbits for 90 days. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.71, n. 6 p.1865-1872, 2019.
- PERGOLIZZI, J. J. V., BATRA, A., & SCHMIDT, W. K. A Randomized Controlled Trial of a Novel Formulation of Ketorolac Tromethamine for Continuous Infusion (NTM-001) in Healthy Volunteers. **Advances in Therapy**, v. 41, n. 2, p. 1-13, 2023.
- PHUWAPATTANACHART, P., THENGCHAI SRI, N. Analgesic efficacy of oral firocoxib in ovariohysterectomized cats. **Journal of Veterinary Science**, v. 18, n. 2, p. 175-182, 2017
- PINTO, V. M., GIANESIN, B., SARDO, S., MAZZI, F., BAIARDI, G., MENOTTI, S., PIRAS, F., QUINTINO, S., ROBELLO, G., MATTIOLI, F., FINCO, G., FORNI, G. L., DE FRANCESCHI, L. Safety and efficacy of ketorolac continuous infusion for multimodal analgesia of vaso-occlusive crisis in patients with sickle cell disease. **Orphanet Journal of Rare Diseases**, v. 19, n.1, p. 22, 2024.
- PUTMAN, A. K., CONTRERAS, G. A., SORDILLO, L. M. Isoprostanes in veterinary medicine: Beyond a biomarker. **Antioxidants**, v. 10, n. 2, p. 145, 2021.
- RANKIN, A. J. Clinical Pharmacology and Therapeutics Part 3: Anti-Inflammatory and Immunosuppressant Drugs. In: Gelatt, K. N. et al. **Veterinary Ophthalmology**. Ames: John Wiley Inc. 6 ed., p. 407-422, 2021.
- RANKIN, A. J., KHRONE, S. G., STILES, J. Evaluation of four drugs for inhibition of paracentesis-induced blood-aqueous humor barrier breakdown in' cats. **American Journal of Veterinary Research**. v. 72, n. 6, p. 826-832, 2011.
- REGNIER, A. Clinical Pharmacology and Therapeutics Part 1: Drug Delivery and Pharmacokinetics. In: Gelatt, K. N. et al. **Veterinary Ophthalmology**. Ames, IA: John Wiley Inc. 6 ed., p. 351-380, 2021.
- RIVERA-ESPINOSA, L., MURIEL, P., ORDAZ GALLO M, PÉREZ-URIZAR J, PALMA-AGUIRRE A, CASTAÑEDA-HERNÁNDEZ G. Ketorolac pharmacokinetics in experimental cirrhosis by bile duct ligation in the rat. **Annals of Hepatology**, v. 2, n. 4, p. 175-181, 2003.

ROBERTS, J. K., MEEKINS, J. M., ROUSH, J. K., RANKIN, A. J. Effects of topical instillation of 0.1% diclofenac sodium, 0.5% ketorolac tromethamine, and 0.03% flurbiprofen sodium on corneal sensitivity in ophthalmologically normal cats.

American Journal of Veterinary Research. v. 82, n. 1, p. 81-87, 2021.

ROUZER, C. A., MARNETT, L. J. Endocannabinoid oxygenation by cyclooxygenases, lipoxygenases, and cytochromes P450: Cross-talk between the eicosanoid and endocannabinoid signaling pathways. **Chemical Reviews**, v. 111, n. 10, p. 5899-5921, 2011.

RUDINSKY, A. J., GUILLAUMIN, J., GILOR C. Sensitivity of fecal occult blood testing in the cat. **Journal of Feline Medicine Surgery**, v. 19, n. 6, p. 603-608, 2017.

SAMUELSON, D. A. Ophthalmic Anatomy. In: Gelatt, K. N. et al. **Veterinary Ophthalmology**. Ames: John Wiley Inc. 6 ed., p. 39-170, 2021.

SEBBAG, L., KIRNER, N. S., WULF, L. W., MOCHEL, J. P. Tear Film Pharmacokinetics and Systemic Absorption Following Topical Administration of 1% Prednisolone Acetate Ophthalmic Suspension in Dogs. **Frontiers in Veterinary Science**. v. 7, n. 571350, 2020.

SELBY, K., BAUMGARTNER, C., LEVIN, T. R., DOUBENI, C. A., ZAUBER, A. G., SCHOTTINGER, J., JENSEN, C. D., LEE, J. K., CORLEY, D. A. Interventions to Improve Follow-up of Positive Results on Fecal Blood Tests: A Systematic Review. **Annals of Internal Medicine**. v. 167, n. 8, p. 565-575, 2017.

SHARIR, M. Exacerbation of asthma by topical diclofenac. **Archives of Ophthalmology**. v. 115, n. 2, p. 294-295, 1997.

SINHA, V. R., KUMAR, R. V., SINGH, G. Ketorolac tromethamine formulations: an overview. **Expert opinion on drug delivery**, v. 6, n. 9, p. 961-975, 2009.

SITENGA, G. L., ING, E. B., VAN DELLEN, R. G., YOUNGE, B. R., & LEAVITT, J. A. Asthma caused by topical application of ketorolac. **Ophthalmology**, v. 103, n. 6, p. 890-892, 1996.

SONNWEBER, T., PIZZINI, A., NAIRZ, M., WEISS, G., TANCEVSKI I. Arachidonic acid metabolites in cardiovascular and metabolic diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 11, p. 3285, 2018.

Sparkes AH, Heiene R, Lascelles BD, et al. ISFM and AAFP consensus guidelines: long-term use of NSAIDs in cats. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 12, n. 7, p. 521-538, 2010.

SPIES, K. E., SLOVAK J. E. Pilot study of the effect of gastrointestinal diets on fecal occult blood testing in cats. **Journal Feline Medicine and Surgery**. v. 22, n. 7, p. 656-663, 2020.

SPOWART, K., GREER, I., A., MCLAREN, M., LLOYD, J., BULLINGHAM, R. E., FORBES, C. D. Haemostatic effects of ketorolac with and without concomitant heparin in normal volunteers. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 60, n. 3, p. 382-386, 1988.

STARK, A. K., GIBLIN, M., KIM, M. J., YANG, R., MCCOLLUM, G. W., & PENN, J. S. 5, 6-epoxyeicosatrienoic acid ethanolamide endocannabinoid mitigates diabetes-induced retinal vascular inflammation. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**, v. 62, n.8, p. 2926-2926, 2021.

STEAGALL, P. V., ROBERTSON, S., SIMON, B., WARNE, LN, SHILO-BENJAMINI Y, TAYLOR S. 2022 ISFM Consensus Guidelines on the Management of Acute Pain in Cats. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 24, n. 1, p. 4-30, 2022.

SYED, M. F., REHMANI, A., YANG, M. Ocular Side Effects of Common Systemic Medications and Systemic Side Effects of Ocular Medications. **Medical Clinics of North America**. v. 105, n. 3, p. 425-444, 2021.

TAYLOR, S., ST DENIS, K., COLLINS, S., DOWGRAY, N., ELLIS, S. L., HEATH, S., RODAN, I., RYAN, L. 2022 ISFM/AAFP cat friendly veterinary environment guidelines. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 24, n. 11, p. 1133-1163, 2022.

TOGURI, J. T., CALDWELL, M., KELLY, M. E. Turning Down the Thermostat: Modulating the Endocannabinoid System in Ocular Inflammation and Pain. **Frontiers in Pharmacology**, v. 7, p. 304, 2016.

TOWNSEND, W. M. Canine and feline uveitis. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**. v. 38, n. 2, p. 323-346, 2008.

TRATTLER, W., MCDONALD, M. Double-masked comparison of ketorolac tromethamine 0.4% versus nepafenac sodium 0.1% for postoperative healing rates and pain control in eyes undergoing surface ablation. **Cornea**. v. 26, n. 6, p. 665-669, 2007.

VADIVELU, N., GOWDA, A. M., URMAN, R. D., JOLLY, S., KODUMUDI, V., MARIA M., TAYLOR, R. J., PERGOLIZZI, J. V. J. Ketorolac tromethamine - routes and clinical implications. **Pain Practice**. v. 15, n. 2, p. 175-193, 2015.

VAN VERTLOO, L. R., TERHAAR, H. M., VIAL, A. K., ALLBAUGH, R. A.

Retrospective evaluation of the incidence of gastrointestinal bleeding in dogs receiving ophthalmic nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **Veterinary Ophthalmology**, v. 26, n. 6, p. 560-564, 2023.

VILLA, R., RAVASIO, G., FERRARESI, C., ZONCA, A., CARLI, S., BORGHI, L., CAGNARDI, P. Pharmacokinetics of intravenous ketorolac in cats undergoing gonadectomy. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 63, n. 3, p. 162-166, 2015.

WANG, B., WU, L., CHEN, J., DONG, L., CHEN, C., WEN, Z., HU, J., FLEMING, I., WANG, D. W. Metabolism pathways of arachidonic acids: Mechanisms and potential therapeutic targets. **Signal Transduction Targeted Therapy**, v. 6, n. 1, p. 94, 2021.

WEGG, M. L. JEANES, E. C., POLLARD, D., FLEMING, L., DAWSON, C. A multicenter retrospective study into endogenous causes of uveitis in cats in the United Kingdom: Ninety two cases. **Veterinary Ophthalmology**, v. 24, n. 6, p.591-598, 2021.

YERLY G, CEREDA J. M. Severe hepatitis due to percutaneous diclofenac.
Gastroentérologie Clinique et Biologique, v. 32, n. 10, p. 824-825, 2008.

ANEXO A – Comprovante de submissão do artigo “Systemic effects of ocular instillation of 0.4% ketorolac trometamol for 15 days in healthy cats” ao periódico Veterinary Ophtalmology, fator de impacto 1,44

Current
Eye Research



Systemic Effects of Ocular Instillation Of 0.4% Trometamol Ketorolac for 15 Days in Healthy Cats

Journal:	Current Eye Research
Manuscript ID:	Draft
Manuscript Type:	Original Articles
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	Mendes, Matheus; Universidade Federal de Mato Grosso Ribeiro, Alexandre; Universidade Federal de Mato Grosso, Silveira, Bruna; Universidade Federal de Mato Grosso da Silva, Beatriz; Universidade Federal de Mato Grosso Mizuu, Priscila ; Universidade Federal de Mato Grosso Souza, Anderson; Universidade Federal de Mato Grosso Lemes, Suélem; Universidade Federal de Mato Grosso
Keywords:	Fecal occult blood test, bleeding test, biochemistry profile, topical NSAIDs, cats

SCHOLARONE™
Manuscripts

29/01/2024, 15:48

Email – Matheus Anthony Mendes – Outlook

Current Eye Research - Manuscript ID NCER-2024-OR-0070

Current Eye Research <onbehalf@manuscriptcentral.com>

Seg, 29/01/2024 17:01

Para: alexandre.aleribs@gmail.com <alexandre.aleribs@gmail.com>
Cc: matheusanthonymendes@hotmail.com <matheusanthonymendes@hotmail.com>; alexandre.aleribs@gmail.com
<alexandre.aleribs@gmail.com>; ruh.pkn@gmail.com <ruh.pkn@gmail.com>; biarochasil97@gmail.com
<biarochasil97@gmail.com>; vetpjsturmer@gmail.com <vetpjsturmer@gmail.com>; anderson.souza@ufmt.br
<anderson.souza@ufmt.br>; suelem.nutri@gmail.com <suelem.nutri@gmail.com>

29-Jan-2024

Dear Professor Ribeiro

Your manuscript entitled "Systemic Effects of Ocular Instillation Of 0.4% Trometamol Ketorolac for 15 Days in Healthy Cats" has been successfully submitted online and is presently being given full consideration for publication in Current Eye Research.

Your manuscript ID is NCER-2024-OR-0070.

Please mention the above manuscript ID in all future correspondence. If there are any changes to your e-mail address, please log in to ScholarOne Manuscripts at <https://mc.manuscriptcentral.com/ncer> and edit your user information as appropriate.

You can also view the status of your manuscript at any time by checking your Author Center after logging in to <https://mc.manuscriptcentral.com/ncer>.

Please note that all future communications concerning this manuscript will be directed to the Corresponding Author only.

Thank you for submitting your manuscript to Current Eye Research.

Regards,

Margaret Searle
Editorial Manager, Current Eye Research

APÊNDICE A – Arquivo submetido ao periódico *Current Eye Research*

Systemic Effects of Ocular Instillation Of 0.4% Trometamol Ketorolac for 15 Days in Healthy Cats

Purpose: To assess the impact of thrice-daily instillation of trometamol ketorolac (TK) over a 15-day period on the blood count, serum biochemistry profile, urinalysis parameters, bleeding time (BT), and fecal occult blood test (FOB) in healthy cats.

Methods: Blood was collected from 15 healthy cats to assess hematological and serum biochemical parameters at baseline and 15 days after the instillation of KT three times a day. Urinalysis parameters, the presence of FOB, and BT were also assessed at the same time points.

Results: Baseline blood count, serum biochemical, and urinary values were within reference limits. On day 15, significant reductions were observed in the hematocrit ($p = .03$), total protein ($p = .02$), and potassium ($p = .004$) compared to baseline values. Despite these changes, all measurements remained within the reference limits, except for ALT, which significantly increased when compared to baseline values ($p = 0.01$). The BT assessed at baseline (133.5 ± 61.33 sec.) was significantly longer than that recorded on day 15 (102.1 ± 32.76 sec.) ($p = .03$). At baseline, all 15 samples from cats tested negative for FOB (Figure 1A). However, by day 15, 11 out of 15 samples tested positive for FOB ($p < .0001$).

Conclusion: The current study showed that in healthy cats, the thrice-daily instillation of KT for 15 consecutive days induced hepatocellular injury and gastrointestinal bleeding, with potential repercussions on hematocrit, total protein, and potassium levels. However, our results must be interpreted with caution, as a control group is lacking in the present study.

KEYWORDS: Fecal occult blood test, bleeding test, biochemistry profile, topical NSAIDs, cats

Introduction

Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) inhibit the cyclo-oxygenase enzyme, reducing pro-inflammatory mediator production.^{1,2} When compared to topical corticosteroids, NSAIDs are preferred for treating uveitis caused by infectious ocular diseases, in diabetic patients, and in cases of corneal ulcerative keratouveitis or stromal abscesses.¹ Additionally, topical NSAIDs are also used in the postoperative period of intraocular surgeries to control inflammation.^{3,4} Ketorolac tromethamine

(KT), is a commonly prescribed non-selective NSAID in veterinary ophthalmology as an eye drop,^{1,5} despite its frequent use, published studies on its effects on intraocular inflammation in cats are lacking.

In cats, the most frequently reported side effects associated with the use of systemic NSAIDs include gastrointestinal disturbances, hepatotoxicity, and nephrotoxicity.^{2,6} However, blood dyscrasias, hematuria, hair loss, respiratory problems, cardiac arrest, and incoordination were reported less commonly.^{2,6} Following topical application of ophthalmic solutions, a portion of the drug is absorbed systemically via conjunctival vessels and nasolacrimal drainage, where it can be absorbed by the nasal mucosa or swallowed.^{7,8} Occurrence of adverse systemic events secondary to topical administration of NSAIDs, although rare, has been reported in human beings as an *in vitro* inhibition of platelet function and exacerbation of bronchial asthma.^{9,10} Systemic absorption following the instillation of ophthalmic NSAIDs has been confirmed in chickens, rabbits, dogs, and cats.^{7,8,11-15} In chickens,¹¹ topical administration of diclofenac to one or both eyes decreased total protein levels, but it did not alter plasma uric acid levels. Similarly, it has been demonstrated that rabbits treated for 90 days with a topical TK ophthalmic solution did not develop adverse systemic events based on clinical signs, food consumption, laboratory findings, and histopathology of the kidneys and liver.¹² Two studies on healthy cats,^{13,14} showed that the instillation of diclofenac or flurbiprofen as ophthalmic solutions did not induce clinically relevant abnormalities in the total blood count, urinalysis, or serum biochemistry profile.

Similar to cats,⁶ gastrointestinal abnormalities are among the most common side effects reported in dogs receiving oral NSAIDs.^{5,16,17} In an experimental study conducted on dogs, the presence of fecal occult blood was observed as early as 7 days after the oral administration of etodolac, meloxicam, ketoprofen, or flunixin meglumine.¹⁶ Similarly, a retrospective study reported that the incidence of gastrointestinal bleeding in dogs receiving topical NSAIDs was comparable to that in dogs receiving systemic NSAIDs or systemic glucocorticoids alone.⁵ However, one study conducted on healthy dogs showed that the twice-daily instillation of KT for 30 consecutive days did not result in clinically relevant gastrointestinal signs, such as vomiting and melena, abnormalities in the total blood count, urinalysis, or serum biochemistry profile.¹⁵

Unlike dogs, which can show increased bleeding times as early as 7 days after oral NSAID administration,¹⁶ cats administered acetylsalicylic acid,¹⁸ meloxicam,¹⁹

vedaprofen,²⁰ and firocoxib²¹ did not exhibit any change in bleeding time. However, in all studies involving cats, the bleeding time was assessed after NSAIDs were administered for period of only 24, 48, or 52 h after surgeries.¹⁸⁻²¹ No previous reports or studies have evaluated the possible adverse systemic events following the administration of topical KT in cats. Cats frequently receive long-term NSAIDs treatment in the form of eye drops post cataract surgery.^{3,4} Therefore, it is important to evaluate the possible changes in systemic parameters in individuals receiving topical KT. Thus, this study aimed to investigate the impact of thrice-daily instillation of TK for 15 consecutive days on the blood count, serum biochemistry profile, urinalysis parameters, bleeding time, and fecal occult blood test in healthy cats.

Materials and Methods

Animals

This study was approved by the institutional Committee for Ethics in the Use of Animals of [MASKED FOR REVIEW] (protocol # 23108.032300/2022-79). Fifteen intact domestic short hair cats aged ___ years and weighing ___–___ kg were included in this study. The exclusion criteria were current or recent (20 days before) treatment with any systemic or topical ophthalmic medications and current or history of ophthalmic or any other known systemic comorbidities.

Clinical, ultrasonographic, and blood exams

General physical and ophthalmic examinations were performed on each cat prior to its inclusion in the study. Further, 5 mL of blood was collected from the jugular vein for hematological evaluation (hematocrit, hemoglobin, platelets, leukogram, and total protein) and serum biochemical analysis (albumin, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase, gamma-glutamyl transferase, total bilirubin, urea, creatinine, cholesterol, lactate, glucose, sodium, and potassium).

An automated hematological (pochH-100iv Diff, Sysmex, Brazil) and biochemical analyzers (CM 250, Wiener lab group, Brazil) were used to perform some of the laboratorial exams described above. Hematocrit and platelet counts were determined manually using light microscopy. Lactate (Accutrend Plus®, Roche, Brazil) and glucose (Accu-Check®, Roche, Brazil) levels were determined with portable devices. Sodium and potassium levels were measured using an electrolyte analyzer.

(EasyLite, Grupo Kovalent, Brazil).

A full abdominal ultrasonography was performed, and in all cats, fresh urine samples were collected by ultrasound-guided cystocentesis for urinalysis and determination of

the urine protein-to-creatinine (UPC) concentration ratio. All abdominal ultrasonograms were performed by the same person, who was blinded to the time points. In the urinalysis, urine specific gravity was measured using refractometry (Atago Refractometer®). Urine pH and other chemical parameters were evaluated using reagent test strips (Combur10 Test UX, Roche, Brazil) and recorded on a specific reader (Urisys 1100®, Roche®, Brazil). All laboratory procedures were performed on each cat approximately one week before the start of the study to ensure that all individuals were healthy and again to collect baseline values.

Bleeding time

Due to difficulty in assessing the oral mucosa in conscious cats, the bleeding time (BT) was measured by puncturing a vein on the external surface of the ear using a 22G needle (Descarpac®, SP, Brazil).²⁰ Tissue absorbent paper (Whatman® quantitative filter paper, Darmstadt, Germany) was used to blot the blood without applying pressure at the puncture site. The time from puncture to the cessation of bleeding was measured using a chronometer. Measurements were taken 24 hours before and 15 days after the treatment, and the interpretation of the BT was conducted in a blinded fashion.

Fecal occult blood in feces

The stool samples used for the detection of occult blood were obtained via free catch from the litter boxes. All cats were administered a deworming treatment of 0.5 mL/kg using a suspension containing fenbendazole, pyrantel, and praziquantel (Vetmax Plus Suspensão®, Vetnil, SP, Brazil) one week prior to the study and a coproparasitological exam was performed to certify the absence of intestinal parasites. The presence of fecal occult blood in feces (FOB) was determined using a luminol test reaction as previously described.²² Pure cat blood and feces mixed with blood were used as positive controls. The interference of iron present in the food or cat litter was also tested. Before collecting feces to determine the baseline FOB, cats were acclimated to a regular dry adult cat diet (Golden Gatos®, Premier Pet®, SP, Brazil) for three days. The interpretation of the luminol-FOB test was conducted in a blinded fashion.

Treatment

Once selected, the cats were administered 40 µL of 0.4% TK ophthalmic solution (Acular® LS, Allergan, SP, Brazil) in both eyes every 08 h for 15 consecutive days. The gastrointestinal tolerance (food intake, vomiting, diarrhea, hematochezia, and melena) to NSAIDs were assessed daily. Physical examination, body weight, BT, FOB,

ultrasonogram from the liver and biliary tract, as well as blood and urinary parameters, were also assessed one day before initiating treatment with TK and again after 15 days.

Statistical analysis

The sample size was determined with a 5% alpha error rate and 80% power based on standard deviations and equivalence limit values for hematological and biochemical parameters detected in previously published studies that used four to six cats/group as an animal model for topical NSAID tolerance.^{13,14} Greater than or equal to 7 cats was calculated as the appropriate sample size (www.sealedenvelope.com). The Shapiro–Wilk test was used to assess data normality. The clinical parameters, BT, and all blood-measured variables were compared using a paired t-test to evaluate potential differences in values observed on day 15 in comparison to the baseline values. The assessment of FOB positivity in feces was determined using Fisher's Exact test. Differences were considered statistically significant at $p < 0.05$ (Prism 4.0-GraphPad Software inc, California, USA). The data are expressed as mean $\pm$ standard deviation.

Results

Clinical parameters

The baseline body weight, respiratory and heart rates, and mean blood pressure did not change after 15 days of treatment with topical KT were within reference limits (Table 1).

Table 1 - Mean $\pm$ SD of clinical parameters in cats at baseline and after the instillation of topical administration of 0.4% ketorolac tromethamine for 15 days.

	Reference	Baseline	Day 15 post treatment	<i>P</i> value
Body weight (kg)	2 - 5	3.41 $\pm$ 0.63	3.48 $\pm$ 0.61	0.33
Respiratory rate (BPM)	16 - 40	40.60 $\pm$ 10.91	35.87 $\pm$ 9.92	0.05
Heart rate (BPM)	120 - 220	139.9 $\pm$ 24.16	132.3 $\pm$ 21.19	0.39
Mean blood pressure (mmHg)	85 - 120	108.9 $\pm$ 7.52	108.1 $\pm$ 15.95	0.81

Blood count, serum biochemical analysis, and urinary parameters

The baseline blood count, serum biochemical, and urinary values were within reference limits (Table 2 - 4). On day 15, significant reductions were observed in the hematocrit ($P = .03$), total protein ($p = .02$), and potassium ($p = .004$) compared to baseline values

(Tables 3 and 4). Despite these changes, all measurements remained within the reference limits, except for ALT, which significantly increased when compared to baseline values ($p=0.01$) (Table 3).

Table 2 - Mean $\pm$ SD of blood count in cats at baseline and after the instillation of topical administration of 0.4% ketorolac tromethamine for 15 days.

	Reference	Baseline	Day 15 post treatment	<i>P</i> value
Erythrocytes ($10^6/\mu\text{L}$)	6.9 – 10.1	8.83 ± 1.25	8.20 ± 1.26	.11
Hemoglobin (g/dL)	8.0 - 15	12.54 ± 1.69	11.43 ± 1.927	.07
Hematocrit (%)	24 - 45	39.07 ± 4.87	33.47 ± 8.28	.03
Leucocytes ($10^3/\mu\text{L}$)	5.5 – 19.5	13.10 ± 5.27	10.12 ± 4.33	.06
Platelets ($10^3/\mu\text{L}$)	300 - 800	392.9 ± 103.1	387.4 ± 69.05	.74

Table 3 - Mean $\pm$ SD of selected biochemical parameters in cats at baseline and after the instillation of topical administration of 0.4% ketorolac tromethamine for 15 days.

	Reference	Baseline	Day 15 post treatment	<i>P</i> value
Total protein (g/dL)	6.6 – 8.4	7.72 ± 0.64	7.22 ± 0.70	0.02
Albumin (g/dL)	3.2 - 4.3	3.40 ± 0.23	3.32 ± 0.21	0.23
Globulin (g/dL)	2.9 - 4.7	3.67 ± 0.75	3.50 ± 0.60	0.21
Albumin/Globulin ratio	0.8 – 1.5	0.93 ± 0.19	0.98 ± 0.21	0.34
ALT (UI/L)	6.0 - 83	63.13 ± 24.62	103.0 ± 74.26	0.01
ALP (UI/L)	25 - 93	78.67 ± 21.29	75.00 ± 18.08	0.58
AST (UI/L)	7.0 - 43	17.47 ± 12.24	23.20 ± 19.05	0.26
GGT (UI/L)	0.0 - 15	10.26 ± 1.93	10.14 ± 2.21	0.84
Total bilirubin (mg/dL)	0 – 0.2	0.06 ± 0.10	0.11 ± 0.18	0.46

Direct bilirubin (mg/dL)	0.0	0.0	0.0	-
Indirect bilirubin (mg/dL)	0.0 – 0.1	0.06 ± 0.10	0.11 ± 0.18	0.34
Colesterol (mg/dL)	71 - 156	100.4 ± 11.56	109.4 ± 17.18	0.06
Glucose (mg/dL)	71 - 182	87.67 ± 11.78	87.40 ± 8.74	0.93
Urea (mg/dL)	42.8 – 64.2	50.87 ± 6.20	54.07 ± 7.26	0.33
Creatinine (mg/dL)	0.8 – 2.2	1.20 ± 0.20	1.21 ± 0.16	0.90
Lactate (mmol/L)	2.0 – 4.1	4.04 ± 0.79	3.87 ± 0.92	0.56
Sodium (mEq/L)	141 – 154	149.3 ± 5.17	148 ± 3.67	0.26
Potassium (mEq/L)	3.0 – 5.0	4.70 ± 0.60	4.28 ± 0.37	0.004

Table 4 - Mean ± SD of selected urinary parameters in cats at baseline and after the instillation of topical administration of 0.4% ketorolac tromethamine for 15 days.

	Reference	Baseline	Day 15 post treatment	<i>P</i> value
Urinary density	1020 - 1060	1057 ± 12.59	1050 ± 14.87	0.14
Urinary pH	5.0 – 7.0	6.10 ± 0.89	5.90 ± 0.38	0.41
UPC (mg/dL)	< 0.20 – 0.4	0.19 ± 0.12	0.19 ± 0.11	0.89

Bleeding time and occult blood test (FOB)

The bleeding time assessed at baseline (133.5 ± 61.33 sec.) was significantly longer than that recorded on day 15 (102.1 ± 32.76 sec.) ($p = .03$).

Pure cat blood and feces mixed with blood tested positive in the luminol reaction and served as positive controls. All food and cat litter samples tested negative for luminol reaction. At baseline, all 15 samples from cats tested negative for FOB (Figure 1). However, by day 15, 11 out of 15 samples tested positive for FOB ($p < .0001$) (Figure 1).

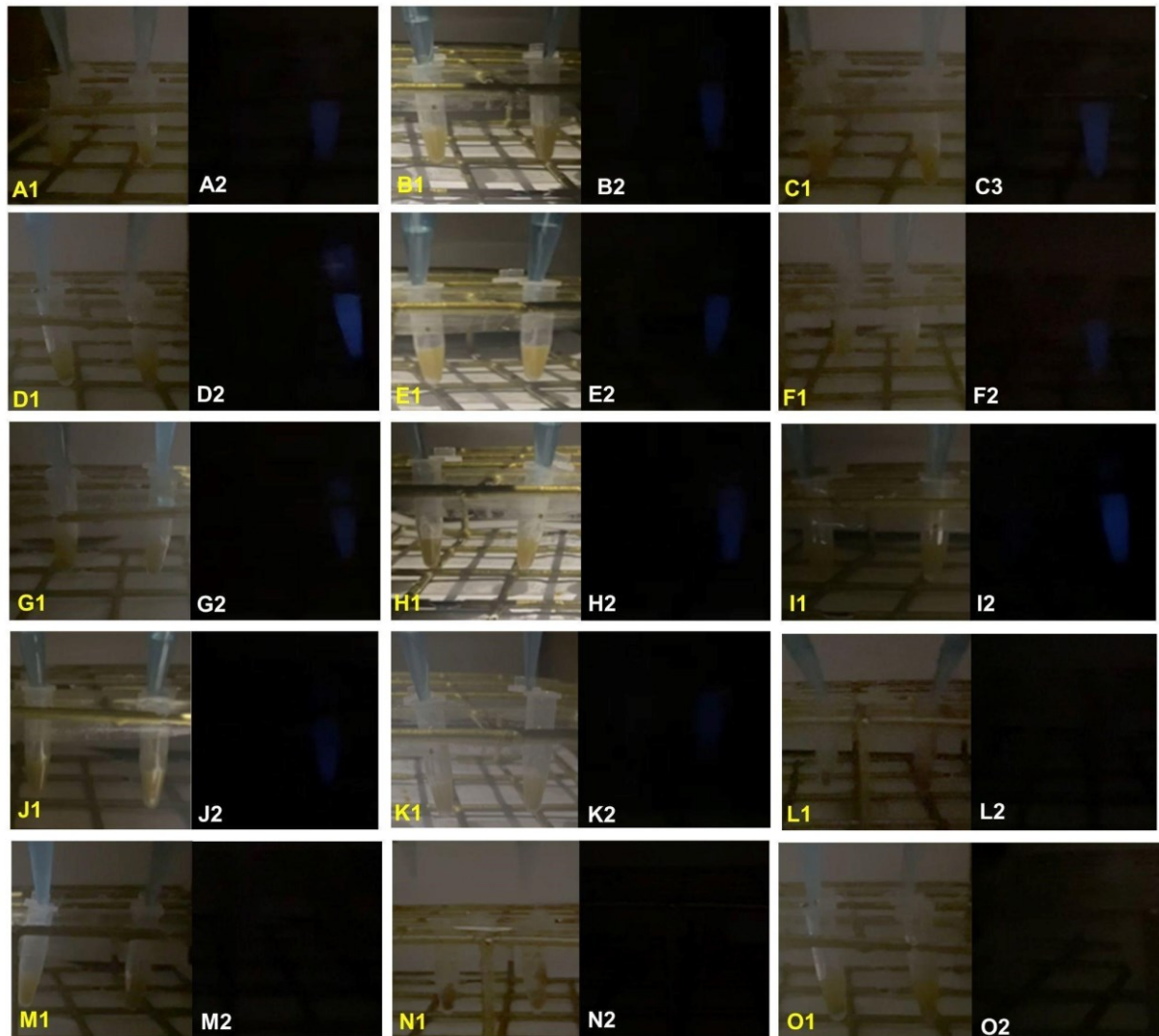


Figure 1. Sequence of pictures illustrating protocols for detecting fecal occult blood through the luminol reaction in 15 cats. From Figure A to O, the vial on the left (1) of each figure represents fecal samples collected at baseline. The vials on the right side (2) of each figure represent fecal samples collected 15 days after the administration of topical ketorolac tromethamine in cats. Positive fecal samples fluoresced blue upon the addition of luminol.

Discussion

To our knowledge, this is the first study to evaluate the possible adverse events in cats treated with the TK ophthalmic solution. Although systemic absorption of TK was not examined in the present study, it might have occurred because diclofenac was detected in the plasma of healthy cats, since the first five minutes of administration.¹³ In another study also conducted in cats, flurbiprofen and diclofenac were detected from the initial blood quantification, which took place four days after the first instillation, until 48 hours

after the cessation of drug administration.¹⁴ In those studies that measured plasma concentrations of topical diclofenac and flurbiprofen in cats, both NSAIDs showed drug accumulation during the last evaluation.^{13,14}

As in previous studies conducted in cats and dogs, topical instillation of diclofenac, flurbiprofen, and KT did not have a clinically relevant impact on renal function as measured by serum urea, creatinine, USG, and UPC ratio.¹³⁻¹⁵ However, in one of these studies, Hsu et al.¹³ reported that diclofenac-treated cats had a significantly lower glomerular filtration rate (GFR), presumably associated with iatrogenic hypovolemia. Araújo et al. (2024)¹⁵ also reported an increase in serum creatinine levels after 15 and 30 days of twice-daily instillation of KT in dogs, although the levels remained within the reference limits.

In the current study, the administration of KT three times a day for 15 days did not lead to clinical signs such as emesis, weight loss, or melena. Our results are aligned with the one reported in a previous experimental study that evaluated the instillation of topical diclofenac for 7 days in healthy cats.¹³ However, at the end of 15 days of treatment with KT, microscopic gastrointestinal bleeding was detected in 73% of the cats of our study. The investigation of FOB is important in feline patients, as gastrointestinal disease may be quiescent for a period of time and blood may go unnoticed by a caregiver or veterinarian, especially as feline stool is often covered in cat litter.²² A retrospective study reported that the incidence of gastrointestinal bleeding in dogs receiving topical diclofenac, flurbiprofen, or KT was comparable to that in dogs receiving systemic NSAIDs or systemic glucocorticoids alone.⁵ In addition, the same study revealed that the episodes of several gastrointestinal bleeding were most commonly reported in dogs receiving topical KT, when compared to dogs receiving topical diclofenac or flurbiprofen.⁵ However, the authors of the clinical study conducted in dogs⁵ did not mention the time elapsed between the initiation of topical NSAID treatment and the occurrence of a positive FOB. Additionally, the authors of the same study⁵ did not report the specific test used for detecting FOB.

The guaiac-based FOB proved to be a reliable screening method in cats after the individuals have acclimated to a dry hydrolyzed and gastrointestinal cat diets.^{23,24} In the guaiac test, the reaction is based on the oxidation of guaiac by hydrogen peroxide, which is catalyzed by the peroxidase-like activity of hemoglobin (Hb).^{23,24,25} In cats, the lower limit of detection for commercial guaiac-test is 15 mg/kg of hemoglobin in feces.²³ The luminol test is based on the oxidation of the substrate by the peroxidase-like activity of Hb, where the luminol reagents emit visible blue–white chemiluminescence in dark field, with the lower limit of detection in rats being 20 ng of Hb per 5 µg of feces.²² In both methods, the reaction involves catalysis by the peroxidase-like activity of Hb. It has been reported that humans²⁵ and dogs²⁶ fed with diets containing red meat, plant peroxidases, and liver, demonstrably show false-positive FOB results. However, there are no previous studies in animals and humans

describing the need for prior diet adaptation before performing the luminol test to detect FOB.

In the present study, the cats were fed a regular cat diet that included dehydrated beet pulp, as well as dehydrated meat and chicken viscera flour in its formulation. Therefore, one can assume that 11 out of 15 positive FOB tests may have resulted from our regular dry diet (Golden Gatos®, Premier Pet®, SP, Brazil). However, this hypothesis can be ruled out, as all stool samples tested negative after an adaptation period of three days to our regular diet. In the current study, we utilized a luminol reaction test to detect FOB due to the unavailability of commercial guaiac-based FOB kits in our country. The luminol test has been used in criminal forensics to detect blood at a crime scene and to detect FOB in an indomethacin-induced intestinal ulcer model in mice.²² The original method described by Park and Tsunoda (2018)²² has proved to be simple, quick, economical, and efficient for detecting FOB in cat feces. However, further controlled studies comparing the sensitivity of the commercial guaiac-based FOB test with the luminol test to detect FOB in cat feces are warranted, as the lower limit of Hb in cat feces has not been determined. Additionally, the effects of different diets, including regular, gastrointestinal, and hydrolyzed options, must be tested to ascertain that the food content does not induce a false FOB positive when a luminol test is used.

Although in our study the hematocrit values have remained within the reference limits after the last evaluation, this parameter decreased significantly (14.33%) compared to baseline values. This information might also suggest blood loss, as demonstrated by the positive FOB test in 73% of the cats in the present study. In the study by Carroll (2005),¹⁹ the hematocrit values of cats were also significantly lower 24 hours after a single dose of subcutaneous meloxicam. However, our results cannot be directly compared with those of Carroll (2005)¹⁹ since the cats in their study underwent surgery.

Bleeding time (BT) is a point-of-care test for the *in vivo* evaluation of primary hemostasis in the cat.^{19,20,27} Provided that platelet count is adequate, BT is expected to be prolonged in inherited or acquired platelet defects and vascular impairment.^{19,20,27-30} Primary hemostasis is mediated by interaction between the vascular endothelium and the platelets, where the pro-aggregation and vasoconstriction effects of thromboxane A₂ are balanced by the anti-aggregation and vasodilation effects of prostaglandin I₂ and nitric oxide derived from the vascular endothelium.^{1,2,9}

Reference limits of buccal mucosa bleeding time (BMBT) have been published in cats sedated with a combination of ketamine, dexmedetomidine, and morphine.²⁷ In that study,²⁵ the values of BMBT ranged from 34 to 105 seconds, with a difference of up to 87 seconds between any two consecutive readings for an individual cat. In the present study, values of BT ranged to 60 to 280 seconds, and we chose to perform the BT in a

vein located on the external surface of the ear due to difficulties associated with assessing the oral mucosa in conscious cats. Brondani et al. (2009)²⁰ also used the ear as the site to perform the BT in awake cats, with results ranging from 32 to 81 seconds. Baseline and post-treatment BTs recorded in the present study were much longer than those reported previously in awake cats who also used the ear as the site to perform the test.²⁰ In the study by Brondani et al (2009),²⁰ vedaprofen did not inhibit platelet aggregation or modify the BT until 52 hours after its parenteral administration. Other studies conducted in cats also showed that the BMBT did not change at 24 and 48 hours after the parenteral administration of meloxicam²⁰ or firocoxib,²¹ respectively.

In awake and anesthetized humans, the parenteral administration of KT prolongs BT and inhibits platelet aggregation and platelet thromboxane production.²⁸⁻³⁰ One study reported a significant systemic antiplatelet effect in humans when indomethacin, but not diclofenac, was administered as ophthalmic eye drops.⁹ However, there are no studies describing the effects of KT when used as eye drops on the coagulation panel. In our study, significantly shorter BTs were observed 15 days after treatment with KT. Interestingly, the changes in this measured parameter occurred in the opposite direction of what is expected when evaluating evidence of coagulation disorders. Considering that the platelet count did not change between periods in the cats of our study, such a difference may not be attributed to the instillation of KT. Therefore, further studies are warranted to certify our findings, as previous studies conducted in cats^{13,14} and dogs^{5,15} that evaluated the possible systemic adverse effects of the instillation of NSAIDs did not assess the BT or other tests such as platelet aggregation and platelet thromboxane production.

The major route of metabolism and excretion of NSAIDs is through hepatic glucuronidation and, compared to other mammals, cats have a very low capacity for hepatic glucuronidation of exogenously administered drugs.² Domestic cats have fewer hepatic UDP-glucuronosyl transferase isoforms, which represent major phase II drug-metabolising enzymes, maybe because of their carnivorous diet and lack of exposure to plants containing phytoalexins.² In humans, KT administered parenterally is primarily eliminated through renal excretion of the unchanged drug.^{29,30} In anesthetized cats, the clearance of a single intravenous dose of KT is low (56.8, SD: 33.1 mL/hour/kg).³¹ Moreover, a study demonstrated that the pharmacokinetics of KT were not altered in rats with induced hepatic cirrhosis.³² The aforementioned informations^{30,31} at least suggests that even in an acute liver injury situation, the elimination of KT still occurs. Thus, the significantly elevated ALT levels supposedly did not influence the clearance of serum KT in the current study.

Nevertheless, further investigation is warranted, as the metabolic pathway of systemic and topical KT in cats have not been reported.

In general, the liver enzymes ALT, AST, and GGT are sensitive indicators of liver disease or injury but are not specific and do not offer any precise indication of liver functionality.³³ In cats, however, even a small increase in ALT is considered an indicator of liver injury, due to the limited serum half-life of this enzyme.³³ In the present study, a significant increase in ALT levels, exceeding the reference limits for cats was observed in the last time point. In cats, ALT elevation is a sensitive method to detect extrahepatic bile duct occlusion and cholangitis/cholangiohepatitis, but the most significant ALT increases are observed in necroinflammatory diseases.³³ Within this context, the ultrasonograms performed during selection and post-treatment discard the former hypotheses in our cats. Therefore, despite the absence of changes in food consumption, jaundice, vomiting, and other biochemical exams related to liver function, our findings suggest, at least, an initial acute necroinflammatory hepatic injury induced by the systemic absorption of KT. Our results contrast with previous studies conducted in cats, where the administration of parenteral^{20,21} and topical¹³ NSAIDs under experimental controlled conditions did not induce acute hepatocellular injury. In the clinical setting, there is a lack of evidence establishing causality between topical forms of NSAIDs and liver enzyme derangements, with only three reported cases in the human literature.³⁴⁻³⁶

Panhypoproteinemia is seen in hemorrhage and is a typical feature of protein-losing from the vascular space due to vasculitis, pleuritis, peritonitis, or protein-losing enteropathies.³⁷ Decreased albumin production also occurs in hepatic insufficiency due to vascular anomalies such as portosystemic shunts or from advanced hepatic parenchymal disease.³⁷ Although the total protein (TP) levels have remained within the reference limits throughout the study, slightly significantly lower values were detected 15 days after KT instillation. Slight decreases in albumin and globulin levels were also observed at the same time point, but statistical significance was not reached. Although not clinically important, this subtle decline in TP and albumin levels may have resulted from microscopic blood loss, as observed by FOB.

In our study, the potassium levels have also remained within the reference range in both evaluations, but a slightly significant decrease was detected 15 days after the instillation of KT. Decreased food intake, excessive or abnormal translocation between the extra and intracellular fluid spaces, and/or excessive loss through the kidneys or gastrointestinal systems are the causes of reduction in levels of this electrolyte.³⁸ Although not clinically important, the lower levels of potassium found in the present study may be related to gastrointestinal loss, as observed by FOB.

The authors acknowledge that the limitations of the current study involve not assessing the same parameters in a control group and not exploring the potential influence of different diets on the luminol FOB test. Therefore, our results must be interpreted with caution until further studies, containing a control group, are carried out. Despite its

limitations, this study certainly emphasizes that veterinarians should exercise caution when prescribing KT for extended periods to cats.

Conclusions

The current study showed that in healthy cats, the thrice-daily instillation of KT for 15 consecutive days induced hepatocellular injury and gastrointestinal bleeding, with potential repercussions on hematocrit, total protein, and potassium levels. However, our results must be interpreted with caution, as a control group is lacking in the present study.

References

1. Giuliano EA. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in veterinary ophthalmology. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2004;34(3):707-23. doi: 10.1016/j.cvsm.2003.12.003.
2. McLean MK, Khan SA. Toxicology of Frequently Encountered Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs in Dogs and Cats: An Update. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2018;48(6):969-984. doi: 10.1016/j.cvsm.2018.06.003.
3. Fenollosa-Romero E, Jeanes E, Freitas I, Enache AE, Lockhart R, Fleming L, Knott TNL, Dawson C, Smith K, Busse C. Outcome of phacoemulsification in 71 cats: A multicenter retrospective study (2006-2017). *Vet Ophthalmol.* 2020;23(1):141-147. doi: 10.1111/vop.12699.
4. Bailey K, Webb T. Retrospective Study of Long-Term Outcome of Phacoemulsification in 22 Feline Eyes with Presumed Congenital/Juvenile Cataracts (2007-2020). *J Am Anim Hosp Assoc.* 2022;58(3):121-128. doi: 10.5326/JAAHA-MS-7201.
5. Van Vertloo LR, Terhaar HM, Viall AK, Allbaugh RA. Retrospective evaluation of the incidence of gastrointestinal bleeding in dogs receiving ophthalmic nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Vet Ophthalmol.* 2023;26(6):560-564. doi: 10.1111/vop.13145.
6. Hunt JR, Dean RS, Davis GN, Murrell JC. An analysis of the relative frequencies of reported adverse events associated with NSAID administration in dogs and cats in the United Kingdom. *Vet J.* 2015;206(2):183-90. doi: 10.1016/j.tvjl.2015.07.025.

7. Sebbag L, Kirner NS, Wulf LW, Mochel JP. Tear Film Pharmacokinetics and Systemic Absorption Following Topical Administration of 1% Prednisolone Acetate Ophthalmic Suspension in Dogs. *Front Vet Sci.* 2020,7:571350. doi: 10.3389/fvets.2020.571350.
8. Ewald MM, Rankin AJ, Meekins JM, Magnin G, KuKanich B. Prednisolone and dexamethasone are systemically absorbed after topical application of ophthalmic suspensions in healthy dogs. *Am J Vet Res.* 2022 Jan 12,83(4):339-348. doi: 10.2460/ajvr.21.04.0059.
9. Falcinelli E, Iannone A, Mezzasoma AM, Amato L, Fierro T, Guglielmini G, Cagini C, Gresele P. Inhibition of platelet function after ocular administration of non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Thromb Res.* 2019,175:1-5. doi: 10.1016/j.thromres.2019.01.005.
10. Syed MF, Rehmani A, Yang M. Ocular Side Effects of Common Systemic Medications and Systemic Side Effects of Ocular Medications. *Med Clin North Am.* 2021,105(3):425-444. doi: 10.1016/j.mcna.2021.02.003.
11. Griggs AN, Yaw TJ, Haynes JS, Ben-Shlomo G, Tofflemire KL, Allbaugh RA. Bioavailability and biochemical effects of diclofenac sodium 0.1% ophthalmic solution in the domestic chicken (*Gallus gallus domesticus*). *Vet Ophthalmol.* 2017 Mar,20(2):171-176. doi: 10.1111/vop.12387.
12. Pereira FQ, Santos B, Carboni T, Bender M, Driemeier D, Cunha ACB, Biajoli MG, Mello FB, Silva PR, Pigatto JAT, Mello JRB. Systemic absorption and adverse effects of topical ocular use of ketorolac tromethamine and sodium diclofenac in New Zealand rabbits for 90 days. *Arq. Bras. Med. Vet. Zoo.* 2019,71(6):1865-1872.
13. Hsu KK, Pinard CL, Johnson RJ, Allen DG, KuKanich BK, Nykamp SG. Systemic absorption and adverse ocular and systemic effects after topical ophthalmic administration of 0.1% diclofenac to healthy cats. *Am J Vet Res.* 2015,76(3):253-65. doi: 10.2460/ajvr.76.3.253.
14. Lanuza R, Rankin AJ, KuKanich B, Meekins JM. Evaluation of systemic absorption and renal effects of topical ophthalmic flurbiprofen and diclofenac in healthy cats. *Vet Ophthalmol.* 2016 Jul,19 Suppl 1:24-9. doi: 10.1111/vop.12295. Erratum in: *Vet Ophthalmol.* 2017,20(4):377.
15. Araújo DSA, Ribeiro AP, Nardes ERS, Lopes D, Nunes E. Effects of trometamol ketorolac eye drops on blood count, serum biochemistry, and urinalysis in healthy dogs. *Arq. Bras. Med. Vet. Zoo.* 2024, ahead of print.
16. Luna SP, Basílio AC, Steagall PV, Machado LP, Moutinho FQ, Takahira RK, Brandão CV. Evaluation of adverse effects of long-term oral administration of carprofen, etodolac, flunixin meglumine, ketoprofen, and meloxicam in dogs. *Am J Vet Res.* 2007,68(3):258-64. doi: 10.2460/ajvr.68.3.258
17. Dobberstein REA, Oblak ML, Brisson BA, Singh A, Moens NMM, Ayoub S.

- Primary repair of nonsteroidal anti-inflammatory drug-associated full thickness gastrointestinal ulcers in 11 dogs. *Vet Surg.* 2022,51(7):1096-1105. doi: 10.1111/vsu.13853.
- 18.Hart S, Deniz A, Sommer B, Kietzmann M, Nolte I. Effect of acetylsalicylic acid on platelet aggregation and capillary bleeding in healthy cats. *Dtsch Tierarztl Wochenschr.* 1995,102(12):476-80. PMID: 8591748.
 - 19.Carroll GL, Howe LB, Peterson KD. Analgesic efficacy of preoperative administration of meloxicam or butorphanol in onychectomized cats. *J Am Vet Med Assoc.* 2005,226(6):913-9. doi: 10.2460/javma.2005.226.913
 - 20.Brondani JT, Luna SP, Marcello GC, Padovani CR. Perioperative administration of vedaprofen, tramadol or their combination does not interfere with platelet aggregation, bleeding time and biochemical variables in cats. *J Feline Med Surg.* 2009,11(6):503-9. doi: 10.1016/j.jfms.2008.12.003
 - 21.Phuwapattanachart P, Thengchaisri N. Analgesic efficacy of oral firocoxib in ovariohysterectomized cats. *J Vet Sci.* 2017,18(2):175-182. doi: 10.4142/jvs
 - 22.Park AM, Tsunoda I. Forensic luminol reaction for detecting fecal occult blood in experimental mice. *Biotechniques.* 2018,65(4):227-230. doi: 10.2144/btn-2018-0017.
 - 23.Rudinsky AJ, Guillaumin J, Gilor C. Sensitivity of fecal occult blood testing in the cat. *J Feline Med Surg.* 2017,19(6):603-608. doi: 10.1177/1098612X16643752.
 - 24.Spies KE, Slovak JE. Pilot study of the effect of gastrointestinal diets on fecal occult blood testing in cats. *J Feline Med Surg.* 2020,22(7):656-663. doi: 10.1177/1098612X19873151.
 - 25.Selby K, Baumgartner C, Levin TR, Doubeni CA, Zauber AG, Schottinger J, Jensen CD, Lee JK, Corley DA. Interventions to Improve Follow-up of Positive Results on Fecal Blood Tests: A Systematic Review. *Ann Intern Med.* 2017,167(8):565-575. doi: 10.7326/M17-1361.
 - 26.Cook AK, Gilson SD, Fischer WD, Kass PH. Effect of diet on results obtained by use of two commercial test kits for detection of occult blood in feces of dogs. *Am J Vet Res.* 1992,53(10):1749-51.
 - 27.Alatzas DG, Mylonakis ME, Kazakos GM, Kostoulas P, Kritsepi-Konstantinou M, Polizopoulou ZS. Reference values and repeatability of buccal mucosal bleeding time in healthy sedated cats. *J Feline Med Surg.* 2014,16(2):144-8. doi: 10.1177/1098612X13502973.
 - 28.Spowart K, Greer IA, McLaren M, Lloyd J, Bullingham RE, Forbes CD. Haemostatic effects of ketorolac with and without concomitant heparin in normal volunteers. *Thromb Haemost.* 1988,60(3):382-6.
 - 29.Conrad KA, Fagan TC, Mackie MJ, Mayshar PV. Effects of ketorolac tromethamine on hemostasis in volunteers. *Clin Pharmacol Ther.* 1988,43(5):542-6. doi: 10.1038/clpt.1988.70.

30. Greer IA. Effects of ketorolac tromethamine on hemostasis. *Pharmacotherapy*. 1990,10(6):71S-76S. PMID: 2082316.
31. Villa R, Ravasio G, Ferraresi C, Zonca A, Carli S, Borghi L, Cagnardi P. Pharmacokinetics of intravenous ketorolac in cats undergoing gonadectomy. *N Z Vet J*. 2015,63(3):162-6. doi: 10.1080/00480169.2014.987329.
32. Rivera-Espinosa L, Muriel P, Ordaz Gallo M, Pérez-Urizar J, Palma-Aguirre A, Castañeda-Hernández G. Ketorolac pharmacokinetics in experimental cirrhosis by bile duct ligation in the rat. *Ann Hepatol*. 2003,2(4):175-81.
33. Johnston AN. Liver Enzymes. In: Ettinger SJ, Feldman EC, Etienne C. (Eds.). *Textbook of veterinary internal medicine: diseases of the dog and cat*. 8ed. St. Louis, Missouri: Elsevier, 2017, p793-802.
34. Daniels AM, Gibbs LM, Herndon CM. Elevated transaminases with topical diclofenac: a case report. *J Pain Palliat Care Pharmacother*. 2018,32(2e3):161e164.
35. Yerly G, Cereda JM. Severe hepatitis due to percutaneous diclofenac. *Gastroenterol Clin Biol*. 2008,32(10):824e825.
36. Delungahawatta T, Pokharel A, Paz R, Haas CJ. Topical Diclofenac-Induced Hepatotoxicity. *J Community Hosp Intern Med Perspect*. 2023,13(3):108-112. doi: 10.55729/2000-9666.1190.
37. Burton S. Hypoproteinemia, hyperproteinemia. In: Ettinger SJ, Feldman EC, Etienne C. (Eds.). *Textbook of veterinary internal medicine: diseases of the dog and cat*. 8ed. St. Louis, Missouri: Elsevier, 2017, p765-770.
38. Maggiore AMD. Potassium, Magnesium. In: Ettinger SJ, Feldman EC, Etienne C. (Eds.). *Textbook of veterinary internal medicine: diseases of the dog and cat*. 8ed. St. Louis, Missouri: Elsevier, 2017, p.822-829.

ANEXO B – Comprovante de submissão do resumo e pôster “Systemic effects of ocular instillation of 0.4% trometamol ketorolac for 15 days in healthy cats” aceito no Encontro Científico Anual do Colégio Europeu de Oftalmologia Veterinária de 2024 (ECVO 2024), ocorrido nos dias 30 de maio até o dia 2 de junho de 2024 em Amsterdã, Holanda

ECVO 2024 | Poster Acceptance Notice for Abstract (Poster)



Dear Alexandre

We are pleased to inform you that your submission (#120) "Systemic effects of ocular instillation of 0.4% trometamol ketorolac for 15 days in healthy cats" has been accepted as **poster presentation** at the 2024 ECVO Annual Conference.

You will receive your exact program location, as well as information on how to upload your presentation materials, in a separate email in early May.

Preparation of your Poster presentation

The 2024 ECVO will take place as a hybrid conference, and all poster presentations, will need to be uploaded and stored in advance, as an electronic poster, in the conference system. **You will be required to be present in person during your assigned poster session slot.**

Please ensure that you are available during this time period. You will have the opportunity to interact and answer questions from the delegates.

APÊNDICE B – Resumo submetido ao ECVO2024

Systemic effects of ocular instillation of 0.4% trometamol ketorolac for 15 days in healthy cats

Matheus A. Mendes ¹; Alexandre P. Ribeiro ¹; Bruna C. Silveira ¹; Beatriz R. Silva ¹; Priscila J. S. G. Mizuuti ¹; Anderson O. Souza ²; Suélem A. F. Lemes ²; Edgar W. Allebrandt Neto ²; Ingrid R. Santos ².

¹ Federal University of Mato Grosso, Ophthalmology section/College of Veterinary Medicine, Cuiabá, Brazil.

² Federal University of Mato Grosso, Department of Chemistry/ College of Chemistry, Cuiabá, Brazil.

Purpose: To assess the impact of thrice-daily instillation of ketorolac tromethamine (KT) over a 15-day period on the blood count, serum biochemistry profile, urinalysis parameters, bleeding time (BT), and fecal occult blood test (FOB) in healthy cats.

Methods: Blood was collected from 15 healthy cats to assess hematological and serum biochemical parameters at baseline and 15 days after the instillation of 0.4% KT three times a day. Urinalysis parameters, the presence of FOB, and BT were also assessed at the same time points.

Results: On day 15, significant reductions were observed in the hematocrit ($p = .03$), total protein ($p = .02$), and potassium ($p = .004$) when compared to baseline values. Despite these changes, all measurements remained within the reference limits, except for alanine aminotransferase (UI/L), which significantly increased (103.0 ± 74.26) when compared to baseline values (63.13 ± 24.62) ($p = 0.01$). The BT (seconds) assessed at baseline (133.5 ± 61.33) was significantly longer than that recorded on day 15 (102.1 ± 32.76) ($p = .03$). At baseline, all 15 samples from cats tested negative for FOB. However, by day 15, 11 out of 15 samples tested positive for FOB ($p < .0001$).

Conclusion: The current study showed that in healthy cats, the thrice-daily instillation of KT for 15 consecutive days induced hepatocellular injury and gastrointestinal bleeding, with possible repercussions on hematocrit, total protein, and potassium levels. However, our results must be interpreted with caution, as a control group is lacking in the present study.