

RITMO CIRCADIANO E ESTRESSE CIRÚRGICO EM CANINOS SUBMETIDOS À OVARIOHISTERECTOMIA ELETIVA

LUÍSA PEREIRA ZACCHI ^{1,2*}, MARIA HELENA MORENO ³, THAÍS
VASCONCELOS DE ALMEIDA ALVES ³, MARCIO OLESZCZYSZYN ³, MATHEUS
CAMPOS ALVES ³, MARIANA SIGNORI OTTO ³, PAULINE SILVA DOS SANTOS
⁴, HELOISA VIEIRA CORDEIRO ⁴, TATIANA CHAMPION ⁵, FABIÓLA
DALMOLIN ^{2,6}

1 Introdução

O ritmo circadiano envolve fenômenos regulados por sinalizadores ambientais que se repetem em períodos aproximados de 24 horas, mantidos por condições endógenas que atuam sincronicamente ao ambiente externo. Os sinais são enviados aos núcleos supraquiasmáticos do hipotálamo, o marca-passo central da modulação do ritmo circadiano (Tsang, Barclay, Oster; 2014). A melatonina sintetizada na glândula pineal, regida pelo núcleo supraquiasmático (Mondes e Tamura, 2021), tem efeito na modulação do ciclo sono-vigília junto ao ritmo circadiano. A secreção desta tem padrão de níveis baixos durante o dia e altos à noite, quando atinge o pico tendo influência direta da luz externa (Tsang, Barclay, Oster; 2014). Além disso, é molécula pleiotrópica, com atuação na redução de espécies reativas e do estresse oxidativo, além da regulação da ritmicidade (Zhao et. al., 2019).

A ovariectomia (OVH) é a remoção cirúrgica dos ovários, útero e tubas uterinas (Macphail e Fossum, 2019) a fim de inibir o estro de caninas, evitar enfermidades e proles indesejadas. Após a cirurgia, a reparação dos tecidos ocorre através de alterações inflamatórias, desencadeadas como resposta ao estresse cirúrgico, que ativa mediadores inflamatórios, metabólicos, endócrinos e imunológicos, e por vezes, estresse oxidativo (Johnston e Tobias, 2017).

1 Acadêmica de graduação do curso de medicina veterinária, Universidade Federal da Fronteira Sul *campus* Realeza-PR, *campus* Realeza - PR, contato: luisa.zacchi@hotmail.com

2 Grupo de Pesquisa: Modelos Experimentais em Saúde - MODEX

3 Discente de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Realeza-PR

4 Mestranda em Medicina Veterinária, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Realeza-PR

5 Prof Dra e Médica Veterinária, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Realeza-PR

6 Prof Dra e Médica Veterinária, Universidade Federal da Fronteira Sul *campus* Realeza-PR, **Orientadora.**

2 Objetivos

Comparar os efeitos da OVH pela manhã e à tarde sobre os parâmetros físicos, o leucograma, indicadores inflamatórios e oxidativos de fêmeas caninas.

3 Metodologia

Após a aprovação pelo Comitê de Ética no Uso de Animais, foram incluídas 12 cadelas hígdas, de dois anos e seis meses \pm 14,4, 17 \pm 3,2 kg, escore corporal 5-6/9, vacinadas e vermifugadas, sem alterações ao exame físico, hematológico, ultrassonográfico abdominal e eletrocardiograma. Após 48 horas de internação (23°C) e jejum sólido de seis horas, as pacientes foram alocadas aleatoriamente por sorteio em dois grupos e submetidas à OVH aberta entre 6-8h (Grupo AM - GAM) ou 18-20h (Grupo PM - GPM). Após 15 minutos da aplicação da metadona (0,3 mg/Kg/IM), foi realizada tricotomia, acesso à veia cefálica e iniciou-se fluidoterapia com Ringer lactato (5 ml/Kg h), mantida por 15 minutos após a extubação. Após indução com propofol (6mg/Kg/IV), realizou-se manutenção com isoflurano vaporizado em oxigênio 100% em vaporizador calibrado. Realizou-se a OVH pela linha média ventral, ruptura do ligamento suspensor ovariano e cauterização bipolar (Macphail e Fossum, 2019). Seguiu-se analgesia com metadona (0,25 mg/kg/SC/TID/48 h) e curativo local com clorexidina (BID).

Realizou-se avaliação de dor pós-operatória por dois avaliadores cegos aos procedimentos utilizando a Escala de Glasgow Modificada por 12 horas pós-operatórias, a cada duas horas, a fim de garantir a analgesia adequada. As pacientes foram avaliadas clinicamente pela temperatura retal (TR), pressão arterial sistólica (PAS) (doppler ultrassônico), frequência cardíaca (FC) e respiratória (f) imediatamente antes da cirurgia (T0) e às seis, 12, 24, 48 h e 14 dias após, assim como laboratorialmente. Para tal, foram coletadas amostras de sangue (4 ml) para leucograma e avaliação do metabolismo oxidativo. Para o leucograma foi utilizado 1 ml de sangue total (EDTA), processado conforme Hendrix (2006) e considerados os valores de Rizzi et al. (2010). Para o metabolismo oxidativo o sangue foi centrifugado para obtenção de plasma e eritrócitos, armazenados em microtubos e congelados a -80°C em ultra-freezer. A avaliação do metabolismo oxidativo será realizada após a finalização de todas as cirurgias, e contemplará a mensuração da vitamina C, tióis proteicos, catalase, superóxido dismutase e dosagem das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico.

Os dados foram tabulados (Excel®) e para avaliar a diferença entre

grupos, ao final da coleta de dados, será utilizado o Teste T de Student nos dados com normalidade confirmada pelo teste de Shapiro-Wilk. Em casos de não normalidade será empregado o teste não paramétrico de Mann-Whitney. Para comparar os diferentes tempos nos grupos serão aplicados a Análise de Variância (ANOVA) e o Teste F (paramétrico) se os resíduos do modelo apresentarem normalidade. Em situações de não normalidade dos resíduos, será utilizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis e o de Friedman. Será considerado $p < 0,05$ utilizando o software R (R CORE TEAM 2020).

4 Resultados e Discussão

Foram incluídas no estudo até o momento 12 cadelas e coletados dados dos parâmetros físicos e leucograma. Nenhum animal teve complicações anestésicas, cirúrgicas e de cicatrização, e as suturas foram removidas após 14 dias. A internação 48h antes da cirurgia visou garantir a ambientação e foi fundamental para minimizar o estresse. Houve tendência de aumento dos parâmetros no T14, associado ao retorno das pacientes ao local das avaliações, conforme explicita Herman et al. (2016), de que como resposta imediata ao estresse frente à situações de adaptação ao meio, há elevação dos glicocorticóides no sangue a partir da ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal que, em conjunto com o aumento de catecolaminas, induz alterações físicas como aumento de FC e PAS.

Os menores valores nas variáveis avaliadas foram observados no T48, quando os animais estavam adaptados ao ambiente e avaliadores. No GAM, verificou-se FC menos estável do que no GPM, com menor média no T48 ($83 \pm 11,4$ bpm) e maior no T14 dias ($117 \pm 30,1$ bpm). No entanto, mesmo com valores mais estáveis, houve tendência do GPM apresentar frequência mais alta que o GAM, atingindo a menor média no T24 ($83 \pm 14,8$ bpm) e T48 ($83 \pm 15,9$ bpm) e a maior no T14 dias ($161 \pm 29,4$ bpm). A PAS parece ser maior no GPM na maioria dos tempos,

Tabela 1: Parâmetros físicos de fêmeas caninas com 2,6 anos ($\pm 14,4$) e 17 kg ($\pm 3,2$) submetidas à ovariectomia eletiva alocadas no Grupo AM

	T0 (basal)	T2	T6	T12	T24	T48	T14 dias
FC (bpm)	105 \pm 13,5	91 \pm 14,6	89 \pm 9	94 \pm 12,8	98 \pm 11,8	83 \pm 11,4	117 \pm 30,1
f (mpm)	49 \pm 45,4	33 \pm 8,5	54 \pm 39,4	34 \pm 23,3	41 \pm 28,3	43 \pm 32,2	55 \pm 31,3
TR (°C)	38,5 \pm 0,5	37,6 \pm 0,3	38,1 \pm 0,6	38,2 \pm 0,5	38,2 \pm 0,4	37,9 \pm 0,3	38,6 \pm 0,6
PAS (mmHg)	142 \pm 28,5	140 \pm 11	154 \pm 28,8	153 \pm 27,4	161 \pm 36,9	152 \pm 27,5	157 \pm 33

(Fonte: do próprio autor, 2024.)

sendo a menor média no T48 ($143 \pm 22,5$ mmHg) e a maior no T14 dias ($178 \pm 29,6$ mmHg); já no GAM sugere-se menor média no T2 (140 ± 11 mmHg) e maior no T24 ($161 \pm 36,9$ mmHg) (Tabela 1 e 2).

Tabela 2: Parâmetros físicos de fêmeas caninas com 2,6 anos ($\pm 14,4$) e 17 kg ($\pm 3,2$) submetidas à ovariectomia eletiva alocadas no Grupo PM

	T0 (basal)	T2	T6	T12	T24	T48	T14 dias
FC (bpm)	105 \pm 17,4	95 \pm 28,2	90 \pm 17,3	95 \pm 10	83 \pm 14,8	83 \pm 15,9	161 \pm 29,4
f (mpm)	75 \pm 34,8	52 \pm 19,1	67 \pm 25,9	58 \pm 34,9	93 \pm 64,1	80 \pm 47,1	111 \pm 46,5
TR (°C)	38,8 \pm 0,2	37,9 \pm 0,4	38,3 \pm 0,4	38,2 \pm 0,5	38,1 \pm 0,2	37,9 \pm 0,5	38,9 \pm 0,6
PAS (mmHg)	161 \pm 23	160 \pm 30,1	165 \pm 33,7	165 \pm 22	149 \pm 30,1	143 \pm 22,5	178 \pm 29,6

(Fonte: do próprio autor, 2024.)

Os dados até aqui avaliados sugerem *f* maior no GPM, sendo a menor média no T2 ($52 \pm 19,1$ mpm) e a maior no T14 dias ($111 \pm 46,5$ mpm). Da mesma forma, no GAM a menor média foi no T2 ($33 \pm 8,5$ mpm) e a maior no T14 dias ($55 \pm 31,3$ mpm). Lumb e Jones (2015) sugerem a ativação do sistema nervoso simpático na presença de estresse e dor, que promove a liberação de catecolaminas responsáveis por elevar a FC e a resistência vascular, levando ao aumento da PAS, assim como também pode refletir em aumento da TR e *f*, como verificado neste estudo. Da mesma forma, a TR pareceu menor no GAM na maioria dos momentos, sendo a menor média no T2 ($37,6 \pm 0,3^\circ\text{C}$) e a maior no T14 dias ($38,6 \pm 0,6^\circ\text{C}$). Já no GPM a menor foi no T2 ($37,9 \pm 0,4^\circ\text{C}$) e no T48 ($37,9 \pm 0,5^\circ\text{C}$) e a maior no T14 dias ($38,9 \pm 0,6^\circ\text{C}$).

Os leucócitos totais foram contados na câmara de Neubauer e a contagem diferencial no microscópio. Tanto o GAM quanto o GPM sugerem menor média no T0 ($14.650 \pm 6467,7$ e 13.533 ± 4.187 , respectivamente), tendência que pode ter correlação com a ausência do trauma cirúrgico, já que neste momento os animais ainda não haviam sido operados. Da mesma forma, ambos os grupos apresentaram maior média no T12 (GPM= $22.300 \pm 6.299,8$ e GAM= $25.750 \pm 7854,4$). Sendo o procedimento cirúrgico um evento traumático, este induz

Tabela 3: Leucócitos totais de fêmeas caninas com 2,6 anos ($\pm 14,4$) e 17 kg ($\pm 3,2$) submetidas à ovariectomia eletiva

	T0 (basal)	T6	T12	T24	T48
GRUPO AM	13.533 \pm 4.187	21.400 \pm 5.563,5	22.300 \pm 6.299,8	18.000 \pm 5.582,8	13.950 \pm 3.977,8
GRUPO PM	14.650 \pm 6.467,7	22.700 \pm 6.143,9	25.750 \pm 7.854,4	20.750 \pm 9.108,4	14.900 \pm 4.457,8

(Fonte: do próprio autor, 2024.)

alterações no leucograma, uma vez que provoca resposta inflamatória como mecanismo de defesa (Macphail e Fossum, 2019), levando comumente à leucocitose observada nos animais deste estudo (Tabela 3).

5 Conclusão

Sugere-se que a realização de cirurgias na parte da tarde (18-20h) provoca maior perturbação na homeostasia de fêmeas caninas híginas submetidas à OVH. O GPM parece apresentar valores maiores nas variáveis observadas em relação ao GAM.

Referências Bibliográficas

- HENDRIX, C. M. The Phylum Platyhelminthes, Class Trematoda. In: **Diagnostic Parasitology for Veterinary Technicians**. Missouri: Mosby Elsevier, 2006. p. 101-105.
- HERMAN J. P. et al. Regulation of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenocortical Stress Response. **Comprehensive Physiology**, v.6, n.6, p.603-621, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1002/cphy.c150015>
- JOHNSTON, S. A.; TOBIAS, K. M. **Veterinary Surgery: Small Animal**. 2. ed. St Louis, Missouri. Elsevier, 2017. 2344 p.
- MACPHAIL, C.; FOSSUM, T. W. Surgery of the Reproductive and Genital Systems. In: **Small Animal Surgery**. 5 ed. Philadelphia: Elsevier, 2019. cap 26, p. 720-787.
- LUMB, W. V.; JONES E. W. **Veterinary Anesthesia and Analgesia**. 4. ed. Hoboken, New Jersey. Wiley-Blackwell. 2015. 1093 p.
- MONDES, P. H. L.; TAMURA, E. K. Melatonina em Animais de Companhia: uma Revisão de Literatura. **Ensaio e Ciência C Biológicas Agrárias e da Saúde**, v. 25, n. 5, p. 671-681, 2022. Doi: 10.17921/1415-6938.2021
- RIZZI, T. E.; MEINKOTH, J. H.; CLINKENBEARD, K. D. **Normal hematology of the dog**. In: Schalm's veterinary hematology. 6ª ed. Iowa: Blackwell Publishing Company, 2010. p.799-810.
- TSANG, A. H.; BARCLAY, J. L.; OSTER, H.. Interactions between endocrine and circadian systems. **Journal of molecular endocrinology**, v. 52, n. 1, p. 1-16, 2014. Doi: 10.1530/JME-13-0118
- ZHAO, D. et al. Melatonin Synthesis and Function: Evolutionary History in Animals and Plants. **Frontiers in Endocrinology**, v. 10, n. 249, p 1-16. 2019. Doi: 10.3389/fendo.2019.00249.

Palavras-chave: Cirurgia; dor; melatonina; inflamação; metabolismo oxidativo.

Nº de Registro no sistema Prisma: PES 2023 - 0210

Financiamento: Fundação Araucária de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Estado do Paraná (FA)