



RITMO CIRCADIANO E ESTRESSE CIRÚRGICO EM CADELAS SUBMETIDOS À OVARIOHISTERECTOMIA ELETIVA

Pauline Silva dos Santos

Mestrando no Programa de Pós-Graduação em Saúde, bem-Estar e Produção Animal
Sustentável na Fronteira Sul (UFFS) e bolsista do CAPES

Felipe Beijamini

Professora do Departamento de Ciências biológicas da Universidade Federal da
Fronteira Sul (UFFS)

Fabíola Dalmolin

Professora do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal da
Fronteira Sul (UFFS)
fabiola.dalmolin@uffs.edu.br

1. Introdução

A ovariohisterectomia (OVH) é uma das intervenções mais comuns na clínica de pequenos animais, utilizada tanto para evitar a gestação quanto para tratamento de afecções reprodutivas (Macphail E Fossum, 2021). O estresse cirúrgico, presente em procedimentos como a OVH, desencadeia uma resposta fisiológica composta por alterações inflamatórias, endócrinas, metabólicas e imunológicas (Küçükakin et al., 2009; Kinlein et al., 2015), mecanismos esses essenciais à adaptação orgânica, mas que, quando exacerbados, podem comprometer a recuperação e favorecer infecções (Sakundech et al., 2020). Biomarcadores como cortisol e glicose são amplamente utilizados para avaliar essa resposta (Hernandez-Alvos et al., 2021).

O ritmo circadiano, que regula funções fisiológicas em ciclos de aproximadamente 24 horas, também influencia as respostas endócrinas e metabólicas nos mamíferos (Tsang, Barckley, Oster, 2014; Panda et al., 2002). A liberação de cortisol, por exemplo, é modulada por esse ritmo e por fatores internos e externos, sendo intensificada em situações de estresse por ação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (Chmelíková et al., 2020; Paredes-Ramos et al., 2023).

Dessa forma, este trabalho propõe-se a discutir os efeitos fisiológicos da ovariohisterectomia eletiva em cadelas, com ênfase nas respostas ao estresse cirúrgico e na influência potencial do ritmo circadiano sobre essas respostas. Para tal, serão utilizados parâmetros físicos e laboratoriais consolidados, mantendo-se a técnica cirúrgica realizada em diferentes horários do dia, a fim de identificar os possíveis efeitos ligados ao ritmo



circadiano. A compreensão dessas interações poderá subsidiar o aprimoramento de protocolos cirúrgicos, com foco na melhora do bem-estar animal.

2. Metodologia

A proposta foi submetida previamente e aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) e a inclusão dos animais estará vinculada à assinatura do termo de autorização livre e esclarecido pelos tutores, que serão informados dos riscos implicados e procedimentos a serem realizados.

Serão selecionadas 22 cadelas hígidas de Realeza - PR e região, de um a quatro anos de idade, entre 10 e 20 kg e escore de condição corporal 5-6/9, vacinadas e vermifugadas. Dois animais foram incluídos no estudo piloto a fim de adequar os protocolos. Os animais serão alocados em dois grupos aleatoriamente por sorteio. Dez animais serão submetidos à OVH entre às 6h e 8h (Grupo AM - GAM), e 10 submetidos à mesma técnica cirúrgica no período da noite (Grupo PM - GPM), entre 18h e 20h.

As pacientes serão internadas 48 horas antes da cirurgia e permanecerão em ambiente hospitalar por 48 horas após a cirurgia, em boxes próprios para a espécie, ambiente climatizado (23 °C), recebendo água e ração comercial ad libitum e com acesso à área externa três vezes ao dia para urinar e defecar. Serão aferidas a temperatura retal, a frequência cardíaca (FC) e a respiratória(f) e a pressão arterial sistólica (PAS); também será realizada coleta de 6 ml de sangue, com auxílio seringa e agulha 25x7 por venopunção direta na veia jugular, nos períodos T0 (imediatamente antes da aplicação da medicação pré-anestésica) para que sirva de referência dos parâmetros fisiológicos dos pacientes, T2 (duas horas após a cirurgia), T6 (seis horas após a cirurgia), T12 (12 horas após a cirurgia), T24 (24 horas após a cirurgia), T48 (48 horas após a cirurgia) e T14 (14 dias após a cirurgia).

O projeto será executado por equipe treinada, sempre pelo mesmo cirurgião, auxiliar, instrumentador e anestesista, proficientes nas diferentes técnicas mantendo-se estritamente o padrão anestésico e cirúrgico. A OVH será realizada por meio de técnica aberta com ruptura do ligamento suspensor ovariano conforme Macphail e Fossum (2021). As cirurgias terão o tempo padronizado de 25 minutos e será mantida a mesma técnica em ambos os grupos, a fim de que o estímulo cirúrgico promovido nos diferentes



horários seja semelhante.

Serão realizadas as aferições de temperatura retal com termômetro veterinário, FC e f por ausculta, e PAS utilizando doppler ultrassônico. Os parâmetros serão aferidos imediatamente antes do início do procedimento cirúrgico, às duas, seis, 12, 24 e 48 horas, e 14 dias após a cirurgia.

Para o leucograma será utilizado sangue total com EDTA, coletado em T0, às seis horas, 12h, 24h, 48h e 14 dias após a cirurgia, processado e analisado no Laboratório de Análises Clínicas da SUHVU da UFFS *Campus Realeza*. Será realizada uma solução com líquido de Türk e sangue total que será carregada na câmara de Neubauer para contagem dos leucócitos totais (Weiser, 2022) considerando os valores de McCourt e Rizzi (2021). A contagem diferencial dos leucócitos será realizada em duplicata por meio de lâminas coradas (método Panótico), analisadas em microscópio óptico (1000×) (Olympus® CX21, Tóquio, Japão); será incluída a contagem de neutrófilos segmentados, linfócitos, monócitos e eosinófilos (Weiser, 2022), seguidas pela avaliação dos dados (McCourt e Rizzi, 2021).

Para dosagem do cortisol sérico será utilizado 2 ml de sangue imediatamente antes do procedimento cirúrgico, e após duas horas, seis horas, 12h, 24h e 48h. O sangue será colocado em tubo com ativador de coágulo e processado no Laboratório de Análises Clínicas da SUHVU da UFFS *Campus Realeza*; posteriormente o soro será congelado e levado para análise utilizando o método de quimioluminescência (Singh, 1997), em laboratório externo.

Os dados obtidos serão tabulados em planilhas eletrônicas do tipo Excel e as medianas das variáveis em diferentes tempos e grupos serão avaliadas com análise de significância ($p < 0.05$) usando o software Jamovi versão 2.3. A normalidade dos dados será verificada usando o teste de Shapiro-Wilk. Para comparações entre grupos com dados distribuídos normalmente e variâncias homogêneas, será aplicado um teste t não corrigido. Quando as variâncias forem heterogêneas, será usada a correção de Welch. Para dados não distribuídos normalmente, será realizada a ANOVA unidirecional, com o teste post hoc de Tukey. Para comparações de pontos de tempo dentro do mesmo grupo, os dados distribuídos normalmente serão analisados usando ANOVA unidirecional com teste post hoc de Tukey. Para dados não distribuídos normalmente, será aplicado o teste



de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste post hoc de Dwass-Steel-Critchlow-Fligner.

3. Resultados esperados

Espera-se que as cadelas submetidas à OVH no período matutino (GAM) apresentem respostas fisiológicas e laboratoriais compatíveis com menor resposta ao estresse cirúrgico em comparação àquelas operadas no período noturno (GPM). Prevê-se que o grupo matutino apresente menor dosagem de cortisol, e espera-se observar menor variação nos parâmetros hemodinâmicos e maior estabilidade clínica no pós-operatório imediato. Os resultados poderão indicar uma possível influência do ritmo circadiano sobre a resposta ao procedimento cirúrgico, contribuindo para a adoção de condutas mais individualizadas quanto ao horário das intervenções cirúrgicas, visando o bem-estar animal e a melhora do prognóstico.

4. Considerações finais

Este estudo buscará aprofundar a compreensão sobre as respostas fisiológicas ao estresse cirúrgico e oxidativo de cadelas submetidas à OVH, considerando a influência do ritmo circadiano. Os achados esperados podem impactar a rotina veterinária ao subsidiar decisões baseadas em evidências quanto ao melhor horário para realização de procedimentos eletivos, favorecendo a recuperação pós-operatória, reduzindo riscos e promovendo maior bem-estar.

A pesquisa também terá impacto na comunidade, uma vez que as cadelas participantes residem na cidade de Realeza e na região Sudoeste do Paraná. Por meio da castração, o estudo não só contribuiu para o controle populacional e a prevenção de doenças reprodutivas, mas também promova a saúde única e o bem-estar dos animais. Esse tipo de ação reflete o compromisso do Programa de Pós-Graduação em unir pesquisa acadêmica de alta relevância com o atendimento às demandas sociais e de saúde pública.

Referências

CHMELÍKOVÁ, E. *et al.* Salivary cortisol as a marker of acute stress in dogs: a review. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 72, p. 106428, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2019.106428>.

HERNÁNDEZ-AVALOS, I. *et al.* Neurobiology of anesthetic-surgical stress and



induced behavioral changes in dogs and cats: A review. **Veterinary World**, v. 14, n. 2, p. 393-404, 2021. DOI: 10.14202/vetworld.2021.393-404.

KINLEIN, S. A.; WILSON, C. D.; KARATSOREOS, I. N. Dysregulated hypothalamic-pituitary-adrenal axis function contributes to altered endocrine and neurobehavioral responses to acute stress. **Frontiers in Psychiatry**, v. 6, p. 31, 2015. DOI: 10.3389/fpsyg.2015.00031.

KÜCÜKAKIN, B. *et al.* Oxidative stress in relation to surgery: is there a role for the antioxidant melatonin? **Journal of Surgical Research**, v. 152, p. 338-347, 2009.

MACPHAIL, C.; FOSSUM, T. W. Surgery of the reproductive and genital systems. In: FOSSUM, T. W. **Small Animal Surgery**. 5. ed. Philadelphia: Elsevier, 2021. cap. 26, p. 720-787.

McCOURT, M. R.; RIZZI, T. E. Hematology of dogs. In: WEISS, D. J.; WARDROP, K. J. (ed.). **Schalm's Veterinary Hematology**. 7. ed. Ames, IA: Wiley-Blackwell, 2021. p. 971-982.

PANDA, S. *et al.* Coordinated transcription of key pathways in the mouse by the circadian clock. **Cell**, v. 109, n. 3, p. 307-320, 2002.

PAREDES-RAMOS, P. *et al.* Salivary cortisol in guide dogs. **Animals: an Open Access Journal from MDPI**, v. 13, n. 12, p. 1981, 2023. DOI: 10.3390/ani13121981.

SAKUNDECH, K. *et al.* The influence of duration on pain stress, oxidative stress, and total antioxidant power status in female dogs undergoing ovariohysterectomy. **Veterinary World**, v. 13, n. 1, p. 160-164, 2020. DOI: 10.14202/vetworld.2020.160-164.

SINGH, A. K. *et al.* Validation of nonradioactive chemiluminescent immunoassay methods for the analysis of thyroxine and cortisol in blood samples obtained from dogs, cats, and horses. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 9, n. 3, p. 261-268, 1997.

TSANG, A. H.; BARCLAY, J. L.; OSTER, H. Interactions between endocrine and circadian systems. **Journal of Molecular Endocrinology**, v. 52, n. 1, p. R1-R16, 2014.

WEISER, G. Sample collection and processing preparations for clinical microscopy, and analysis of laboratory service options. In: WEISS, D. J.; WARDROP, K. J. (ed.). **Veterinary Hematology, Clinical Chemistry, and Cytology**. 3. ed. Ames, IA: Wiley-Blackwell, 2022.