

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA
VETERINÁRIA**

**CORTISOL, GLICOSE E TRIGLICERÍDEO NA
AVALIAÇÃO DO ESTRESSE NEUROENDÓCRINO
DE CÃES COM FRATURA TIBIAL**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

ANDRÉ LUIZ TORRECILLAS STURION

**Santa Maria, RS, Brasil
2011**

**CORTISOL, GLICOSE E TRIGLICERÍDEO NA
AVALIAÇÃO DO ESTRESSE NEUROENDÓCRINO DE
CÃES COM FRATURA TIBIAL**

André Luiz Torrecillas Sturion

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Cirurgia Veterinária, da Universidade Federal de Santa Maria, (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Medicina Veterinária.**

Orientador: Prof. Dr. João Eduardo Wallau Schossler

**Santa Maria, RS, Brasil
2011**

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária**

**A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado**

**CORTISOL, GLICOSE E TRIGLICERÍDEO NA AVALIAÇÃO DO
ESTRESSE NEUROENDÓCRINO DE CÃES COM FRATURA
TIBIAL**

elaborada por
André Luiz Torrecillas Sturion

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Medicina Veterinária

COMISSÃO EXAMINADORA:

João Eduardo Wallau Schossler, Dr.
(Presidente/Orientador)

Anne Santos do Amaral
(Doutora UFSM)

Eduardo Santiago Ventura de Aguiar
(Doutor, UFPel)

Santa Maria, 30 de setembro de 2011

RESUMO

Dissertação de Mestrado

Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária

Universidade Federal de Santa Maria

CORTISOL, GLICOSE E TRIGLICERÍDEO NA RESPOSTA NEUROENDÓCRINA DE CÃES COM FRATURA TIBIAL

AUTOR: André Luiz Torrecillas Sturion

ORIENTADOR: João Eduardo Wallau Schossler

Data e local da defesa: Santa Maria, 30 de setembro de 2011

“Resposta ao estresse” é a designação para o conjunto de alterações hormonais e metabólicas que decorrem após qualquer situação de trauma. A resposta ao estresse tem como finalidade manter e/ou restaurar a homeostase do organismo lesado. A principal resposta endócrina ao estresse é caracterizada como o aumento da secreção de hormônios pituitário e ativação do sistema nervoso simpático. Dentre os hormônios pituitários está o ACTH, que irá sensibilizar as células da adrenal para secretar cortisol. As mensurações bioquímicas, especialmente o cortisol e a glicose tem se mostrado importantes referencias para a avaliação da dor e do estresse por meio indireto. Sendo assim, o objetivo desta pesquisa é medir o cortisol, os metabólicos energéticos glicose e triglicerídeo, na avaliação da resposta neuroendócrina de cães com fratura tibial. Para o presente estudo, foram utilizados 12 cães com fratura tibial. Foram realizadas cinco coletas de sangue venoso, no momento do atendimento do paciente, durante o procedimento cirúrgico logo após a indução anestésica, cinco minutos após a estimulação periosteal pelo implante, 24 horas após a primeira coleta durante o procedimento cirúrgico e após sete dias do procedimento cirúrgico. Não foram observadas diferenças estatísticas significativas entre os tempos e entre os valores de cortisol, glicose e triglicerídeo, porém houve diferença numérica entre as médias dos tempos analisados, sendo observado que o cortisol apresentou uma média decrescente entre os tempos. As médias dos valores de glicose apresentaram acréscimo nos períodos pré e trans cirúrgicos com decréscimo das médias nos períodos pós-cirúrgicos. As médias dos valores de triglicerídeo apresentaram grande variação entre os períodos. É possível concluir que o cortisol é um importante mediador na resposta neuroendócrina aguda de cães com fratura tibial, os valores médios de glicose não responderam de forma similar ao cortisol durante os procedimentos cirúrgicos e que o triglicerídeo não é um bom parâmetro de avaliação do estresse neuroendócrino agudo de cães com fratura tibial.

Palavras-Chaves: Osteossíntese tibial. Eixo Pituitário-adrenal. Cão

ABSTRACT

Master Dissertation

Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária

Universidade Federal de Santa Maria

CORTISOL, GLUCOSE, AND TRYGLICERIDES IN NEUROENDOCRINE RESPONSE OF DOGS WITH TIBIAL FRACTURE

AUTHOR: André Luiz Torrecillas Sturion

ADVISER: João Eduardo Wallau Schossler

Date and Place: Santa Maria, September 30th, 2011

"Response to stress" is the designation for the set of metabolic and hormonal changes that take place after any traumatic situation. The stress response is intended to maintain and / or restore the homeostasis of the body injured. The major endocrine response to stress is characterized as the increased secretion of pituitary hormones and activation of the sympathetic nervous system. Among the pituitary hormones is ACTH, which will sensitize the cells of the adrenal gland to secrete cortisol. The biochemical measurements, especially cortisol and glucose has been shown to be important references for the evaluation of pain and stress by indirect means. Therefore, the objective of this research is to measure cortisol, the glucose and triglyceride metabolic energy, in evaluating the neuroendocrine response of dogs with tibial fractures. For the present study, we used 12 dogs with tibial fractures. Were collected five venous blood samples, at the time of patient care, during the surgical procedure after induction of anesthesia, five minutes after stimulation by periosteal implant, 24 hours after the first collection during surgery and after seven days of the surgery. There were no statistically significant differences between times and between the values of cortisol, glucose and triglycerides, but there was a numerical difference between the mean times analyzed, we observed that the cortisol showed an average decrease between times. The mean glucose values had increased in the pre and trans-surgical times, and with a decrease in mean postoperative periods. Mean triglyceride values varied widely between periods. It is possible to conclude that cortisol is an important mediator in the neuroendocrine response of dogs with acute tibial fractures, the mean values of glucose did not respond similarly to cortisol during surgical procedures and that the triglyceride is not a good parameter for evaluating the neuroendocrine stress dogs with acute tibial fractures.

Key words: Tibial osteosynthesis. Pituitary-adrenal axis. Dog

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Incidências radiográficas do cão número 11 com fratura tibial. Incidência A projeção craniocaudal. Incidência B projeção mediolateral.....19

LISTA DE QUADROS

- QUADRO 1 – Quadro demonstrando os dados de raça, idade, massa corporal e sexo dos cães com fraturas tibiais.....18
- QUADRO 2 – Classificação clínico cirúrgica das fraturas dos pacientes submetidos ao experimento.....20
- QUADRO 3 – Técnicas de osteossíntese usado em cada paciente com fratura tibial.....21

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 – Distribuição percentual dos animais conforme as diferentes raças, dos pacientes submetidos a cirurgia de osteossíntese tibial.....	23
GRÁFICO 2 – Distribuição percentual dos animais conforme a faixa etária dos pacientes submetidos à cirurgia de osteossíntese tibial.....	24
GRÁFICO 3 – Distribuição percentual entre machos e fêmeas dos animais submetidos à redução de fratura através da técnica de osteossíntese tibial.....	25
GRÁFICO 4 – Distribuição percentual entre massas corporais dos animais submetidos à redução de fratura através da técnica de osteossíntese tibial.....	25
GRÁFICO 5 – Distribuição percentual da localização anatômica das fraturas diafisárias dos pacientes que foram submetidos à osteossíntese tibial.....	26
GRÁFICO 6 – Distribuição percentual dos membros pélvicos acometidos com fraturas diafisárias dos pacientes que foram submetidos à osteossíntese tibial.....	27
GRÁFICO 7 – Distribuição percentual dos tipos de fraturas diafisárias dos pacientes submetidos a osteossíntese tibial.....	27
GRÁFICO 8 – Valores do glicocorticóide cortisol, em cada tempo e em cada paciente, e valores médios em cada tempo.....	28
GRÁFICO 9 – Valores do metabólito glicose, em cada tempo e em cada paciente, e valores médios em cada tempo.....	29
GRÁFICO 10 – Valores do metabólito triglicérido, em cada tempo e em cada paciente, e valores médios em cada tempo.....	30
GRÁFICO 11 - Valores médios de cortisol, glicose e triglicérido em cada amostra coletada.....	30

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	10
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	12
2.1 Anatomohistologia das glândulas adrenais.....	12
2.2 Ativação da resposta neuroendócrina ao estresse.....	12
2.3 Síntese, circulação e metabolização do Cortisol.....	13
2.4 Efeito do cortisol sobre o metabolismo da glicose.....	14
2.5 Efeito do cortisol sobre o metabolismo de lipídios.....	14
2.6 Ação do cortisol sobre o processo inflamatório.....	15
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	18
4 RESULTADOS.....	23
5 DISCUSSÃO.....	31
6 CONCLUSÃO.....	35
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36

1. INTRODUÇÃO

“Resposta ao estresse” é a designação para o conjunto de alterações hormonais e metabólicas que decorrem após qualquer situação de trauma. Tais alterações respondem em um estado de hipercatabolismo, com elevação de níveis plasmáticos de hormônios catabólicos (WEISSMAN, 1990).

A resposta ao estresse tem como finalidade manter e/ou restaurar a homeostase do organismo lesado, mantendo a estabilidade hemodinâmica, preservação de aporte de oxigênio para tecidos nobres, mobilização de substrato calórico (glicose), redução de efeitos dolorosos e manutenção de temperatura corpórea (STOCHE et al., 2001).

A principal resposta endócrina ao estresse é caracterizada como o aumento da secreção de hormônios pituitários e ativação do sistema nervoso simpático. Esta ativação resulta em aumento significativo na secreção de catecolaminas, dentre elas a principal é a epinefrina, pela região medular das glândulas adrenais. Estas catecolaminas ativam as fibras cardíacas aumentando o seu potencial de contratilidade, aumentando com isso o aporte sanguíneo para os tecidos e assim uma maior oxigenação dos mesmos (DESBOROUGH, 2000).

Logo após esta primeira resposta do organismo, o hipotálamo sensibiliza a glândula pituitária a secretar hormônios importantes para a homeostase do organismo, dentre eles o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), transportado pela corrente sanguínea, que irá sensibilizar a região cortical das glândulas adrenais a fim de aumentarem a produção e conseqüentemente à secreção de cortisol e aldosterona (STOCHE et al., 2001).

O cortisol altera notavelmente o metabolismo, principalmente o metabolismo de carboidratos, gordura e proteínas. Esta mudança disponibiliza um maior volume de substrato energético circulante para as células, também auxilia na redução do consumo especialmente de glicose por algumas células com menor importância no momento de estresse (GUYTON & HALL, 2006).

Outro mecanismo importante do cortisol está no seu efeito glicocorticóide, sendo observada uma notável e potente resposta associada à atividade antiinflamatória. Os

glicocorticóides inibem a acumulação de células de defesa, especialmente macrófagos e neutrófilos em áreas de inflamação, além disso, interferem na síntese de mediadores inflamatórios, em particular as prostaglandinas (YEAGER et al., 2004).

As mensurações bioquímicas, especialmente o cortisol e a glicose tem se mostrado importantes referências para a avaliação da dor e do estresse por meio indireto. Porém, estudos sobre o assunto demonstram divergência de resultados.

Existem poucos trabalhos na literatura atual que avaliem a resposta neuroendócrina ao estresse de cães fraturados. A grande maioria destes trabalhos avalia esta resposta de forma experimental, produzindo o acidente traumático e corrigindo o mesmo cirurgicamente.

Sendo assim, o objetivo desta dissertação é mensurar os valores plasmáticos de cortisol, juntamente com metabólicos energéticos glicose e triglicerídeo, na avaliação da resposta neuroendócrina de cães com fratura tibial.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Anatomohistologia das glândulas adrenais

As glândulas adrenais, presentes em pares nos mamíferos, apresentam peso aproximado de quatro gramas e se localizam nos pólos craniais dos rins. São compostas por duas áreas distintas: medula adrenal e córtex adrenal. A área medular, que consiste em aproximadamente 20% da glândula, é responsável pela secreção dos hormônios epinefrina e norepinefrina em resposta a estímulos simpáticos (GUYTON & HALL, 2006).

O córtex adrenal é dividido em três camadas distintas, sendo cada uma responsável pela secreção de hormônios específicos:

A zona glomerulosa, localizada na região externa da glândula logo abaixo da cápsula, constitui cerca de 15% do córtex adrenal; estas células são responsáveis pela secreção de uma quantidade significativa de aldosterona.

A zona fasciculada, a camada mediana desta área da glândula adrenal, constitui cerca de 75% de todo o córtex adrenal, responsável pela secreção dos glicocorticóides endógenos cortisol e corticosterona, assim como uma pequena quantidade de andrógenos e estrógenos adrenais. A secreção destas células é controlada, quase em sua totalidade, pelo eixo hipotalâmico-hipofisário, através do hormônio adrenocorticotrópico (ACTH).

A zona reticular, a camada profunda do córtex adrenal, é responsável pela secreção de andrógenos adrenais, assim como uma pequena quantidade de estrógeno e alguns glicocorticóides (GUYTON & HALL, 2006).

2.2 Ativação da resposta neuroendócrina ao estresse

A resposta endócrina é ativada por estímulos neuronais a partir do local da lesão tecidual. O impulso viaja através das vias neuronais até o hipotálamo. Após a sensibilização do hipotálamo, este libera um importante hormônio, o fator liberador de corticotropina (CRF), que é transportado até a hipófise através dos capilares do sistema

porta hipotálamo-hipofisário. O CRF entrando em contato com as células da hipófise anterior ativa a secreção de hormônio Adrenocorticotrófico (ACTH). A hipófise libera uma grande quantidade de ACTH para a corrente sanguínea, tendo o sítio de ação as células presentes na zona fasciculada das adrenais (YEAGER et al., 2004).

Após a sensibilização das células adrenais, estas aumentam o número de receptores para captação de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e colesterol da circulação sanguínea, essenciais para produção de esteróides (GUYTON & HALL, 2006).

2.3 Síntese, circulação e metabolização do Cortisol

O cortisol é sintetizado a partir da molécula de colesterol. Esta síntese ocorre no interior do retículo endoplasmático, através de três processos de hidroxilação. Cada hidroxilação é catalizada por um sistema enzimático específico (ZALOGA & MARIK, 2001).

Aproximadamente 90 a 95% do cortisol circulante na corrente sanguínea está ligado a proteínas plasmáticas, especialmente numa globulina específica chamada globulina ligadora de cortisol ou transcortina e, uma outra pequena fração ligada à albumina. Porém o cortisol só apresenta ação fisiológica quando circulando em forma livre. Esta conjugação do cortisol com proteínas plasmáticas serve como reservatório para diminuir rápidas flutuações nas concentrações de forma livre, também pode ajudar a garantir uma distribuição relativamente uniforme do hormônio nos tecidos (ANTI et al., 2008).

O cortisol é degradado principalmente pelo fígado, formando especialmente conjugados com ácido glicurônico e, em menor quantidade, com sulfatos. Estas substâncias inativadas são excretadas principalmente pela bile. Outra pequena fração circula pela corrente sanguínea sem ser ligada à proteína plasmática, sendo rapidamente excretada pelos rins (GUYTON & HALL, 2006).

2.4 Efeito do cortisol sobre o metabolismo da glicose

O efeito metabólico mais amplamente conhecido do cortisol e de outros glicocorticóides é sua capacidade de estimular a gliconeogênese pelo fígado. Esta capacidade metabólica do cortisol é devida a mobilização de aminoácidos, principalmente do tecido muscular, para o interior dos hepatócitos formando uma grande quantidade de glicogênio (GUYTON & HALL, 2006).

O cortisol também provoca uma redução moderada na taxa de utilização de glicose pela maior parte das células do organismo. Embora o mecanismo desta redução não esteja bem elucidado, acredita-se que o cortisol retarde a velocidade de utilização de glicose em algum ponto entre sua entrada nas células e sua degradação final (GUYTON & HALL, 2006).

Tanto o aumento da taxa de gliconeogênese quanto a redução na taxa de utilização de glicose pelas células provocam elevação da concentração sanguínea de glicose. Este aumento de concentração por sua vez estimula a secreção de insulina, porém a estimulação não é tão eficiente na manutenção dos níveis normais de glicose plasmática (ZALOGA & MARIK, 2001).

2.5 Efeito do cortisol sobre o metabolismo de lipídios

O cortisol mobiliza ácidos graxos a partir do tecido adiposo. Esse efeito eleva a concentração de ácidos graxos livres no plasma, o que também aumenta sua utilização para a geração de energia. O cortisol também exerce um efeito direto sobre o aumento de oxidação de ácidos graxos nas células (GUYTON & HALL, 2006).

A mobilização de gorduras pelo cortisol, combinada à maior oxidação de ácidos graxos nas células, contribui para que os sistemas metabólicos celulares deixem de utilizar glicose para a geração de energia e passem a utilizar ácidos graxos em momentos de jejum ou outros estresses. Este mecanismo do cortisol precisa de muitas horas para se tornar plenamente funcional. Contudo, o maior uso de ácidos graxos para a geração metabólica de energia é um importante fator para a conservação em longo prazo de glicose e glicogênio corporais (GUYTON & HALL, 2006).

2.6 Ação do cortisol sobre o processo inflamatório

O cortisol atua inibindo os sinais que estimulam o início do processo inflamatório. Dentre os sinais principais estão a ativação de leucócitos através de contato com fragmentos celulares e outras substâncias como histamina, bradicinina e enzimas proteolíticas (KRAYCHETE et al., 2006). Uma das ações do cortisol é impedir a degradação dessas células através da estabilização das membranas dos lisossomos, dificultando sua ruptura e a consequente lise da célula (GRECO & STABENFELDT, 2004)

O cortisol também reduz a permeabilidade dos vasos sanguíneos, diminuindo a diapedese de células de defesa sanguíneas, como monócitos, e diminui o extravasamento de plasma para o interstício, reduzindo os edemas. Além disso, o cortisol reduz a reprodução de linfócitos, já que são os linfócitos que iniciam o processo inflamatório, reconhecendo, primeiramente, os antígenos (GRECO & STABENFELDT, 2004).

O cortisol tem se mostrado uma importante variável na resposta ao agente estressor, e sua resposta é tipicamente proporcional a magnitude da injúria ou processo patológico (MUNCK et al., 1984). Porém, estudos em humanos demonstram uma heterogenia de resultados na função adrenocortical em pacientes com doenças graves. Em pacientes com choque séptico, é observado um elevado nível de cortisol sérico, e observada a perda da correlação entre os níveis de ACTH sérico e concentrações plasmáticas do cortisol (MARTIN & GROMAN, 2004).

Frank et al. (2004) avaliando a resposta da administração de ACTH sintético sobre a resposta de hormônios sexuais adrenais, observaram que estes pacientes após 1 hora de administração deste hormônio apresentaram incremento significativo nos níveis de cortisol livre circulando na corrente sanguínea.

Em estudo avaliando a concentração sérica de 17- α -hidroxiprogesterona, uma das enzimas hepáticas responsável pela síntese de cortisol, após administração de ACTH sintético em cães com suspeita de hiperadrenocortisismo não neoplásico. Observaram que esta enzima aumentou em apenas 10,4% dos animais (BEHREND et al., 2005).

Wang et al. (1999) avaliaram a resposta da corticosterona, hormônio semelhante ao cortisol, em ratos com choque hemorrágico. Observaram que a corticosterona aumentou em grande quantidade após 10 minutos do início da hemorragia, e que estes valores se mantiveram elevados até 90 minutos após o resgate da volemia dos animais.

Olsson et al. (2003) avaliaram as concentrações plasmáticas de vasopressina, ocitocina, cortisol e prostaglandina em cadelas penhes, observaram que o nível de cortisol aumentou durante a parição do primeiro e segundo filhote, e que este nível decaiu após a saída dos demais filhotes.

Em um trabalho recente, avaliando cães com choque séptico internados em unidades de terapia intensiva, Martin et al. (2008), observaram que estes pacientes apresentavam um intenso aumento sobre os níveis de cortisol, e que por outro lado o aumento de ACTH não era tão similar quanto ao cortisol.

Schoeman et al. (2007), avaliaram as concentrações de cortisol e tiroxina em filhotes de cães com diarréia hemorrágica devido a parvovirose, neste estudo observaram que pacientes que apresentavam níveis de cortisol acima de 250 mmol/litro de sangue, tinham potencial a ir a óbito, pois estas concentrações de cortisol já não mantinham mais a homeostase do indivíduo.

Em outro estudo, avaliando cães com sinais clínicos e pré-clínicos de cardiomiopatia dilatada, observaram que animais com sinais pré-clínicos já apresentavam alteração dos níveis de cortisol urinário quando comparados com cães hígidos (TIDHOLM et al., 2005).

Pessina et al. (2009) estudaram o efeito da administração de ACTH e de baixas doses de dexametasona na concentração plasmática de cortisol em cães machos e fêmeas, e analisou também o efeito deste teste sobre os níveis de colesterol e triglicerídeos sanguíneos. Observaram que a administração de dexametasona reduz os níveis de cortisol em apenas uma hora após o tratamento nos machos, e que nas fêmeas esta concentração se mantém reduzida durante um período de três horas. Com relação à administração de ACTH observaram que o aumento foi relativamente superior nas fêmeas em comparação aos machos. E que os níveis de colesterol e triglicerídeos não apresentaram grandes elevações, porém as fêmeas já apresentavam um valor superior de colesterol desde o início quando comparados aos machos.

Em um experimento avaliando o uso da administração do cetoprofeno no pré-operatório de ovariectomia, foi observado que o cortisol foi significativo apenas no início da cirurgia e que os níveis de glicose plasmática, apresentou elevação significativa apenas oito horas após o início do procedimento cirúrgico (LEMKE et al., 2002).

Cambridge et al. (2000) avaliaram a dor pós-operatória de felinos machos após a castração eletiva, não encontraram oscilação significativa no níveis plasmáticos de cortisol e de β -endorfina nos períodos pré, trans e pós-operatórios.

Em estudo que comparou a influência do butorfanol e da meperidina como medicação pré-anestésica sobre os níveis plasmáticos de cortisol e glicose, em cães submetidos à cirurgia experimental de correção de luxação patelar. Observaram que os níveis de glicose e cortisol não apresentaram diferenças significativas entre os grupos avaliados, e não observou diferença significativa entre os períodos de coleta durante o procedimento cirúrgico (MATTOS Jr et al., 2009).

No experimento realizado por Bergmann et al. (2007), em que avaliaram a eficiência analgésica do carprofeno associado a anestesia epidural com mepivacaína, em cães com fratura de pelve ou femoral, não encontraram acréscimo significativo nos níveis de cortisol, durante o procedimento cirúrgico e nem no período pós-operatório.

Sibanda et al. (2006) avaliaram os níveis de cortisol em anestesia epidural utilizando bupivacaína associado a morfina em cirurgia de correção de ligamento cruzado e cirurgia para correção de luxação patelar. Observaram que no grupo que recebeu anestesia epidural a oscilação dos valores de cortisol foi inferior ao grupo que não recebeu as medicações.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Para o presente estudo, foram utilizados 12 cães, provenientes da rotina cirúrgica do Hospital Veterinário Universitário da Universidade Federal de Santa Maria – RS HVU/UFSM. A massa corporal destes pacientes foram entre 11,2 e 37,4 quilogramas com uma média de 21,216 quilogramas.

Quadro 1 – Quadro demonstrando os dados de raça, idade, massa corporal e sexo dos cães com fraturas tibiais.

Paciente	Raça	Idade (anos/meses)	Massa corporal (Kg)	Sexo
1	SRD*	2 ^a	17,3	Macho
2	Rotweiler	4 ^a	32,4	Fêmea
3	Fila Brasileiro	1a 6m	37,4	Macho
4	SRD	4 ^a	14,7	Macho
5	SRD	9m	11,2	Fêmea
6	Labrador	8m	18,7	Macho
7	Rotweiler	2 ^a	23,7	Fêmea
8	SRD	5 ^a	20,2	Macho
9	Labrador	3 ^a	26	Macho
10	SRD	7 ^a	16,3	Macho
11	Labrador	5m	17,8	Macho
12	SRD	3a 6m	19,3	Fêmea

* Sem Raça Definida

Todos os pacientes foram avaliados clinicamente quanto a condição clínica geral, sendo os dados do paciente anotados em ficha clínica do HVU-UFSM e ficha específica para o experimento. Durante a anamnese se observou, através de relato dos proprietários, que o animal havia sofrido trauma automobilístico em um tempo inferior a 48 horas. Posteriormente a esta avaliação, os pacientes foram encaminhados para exame radiográfico, onde foram feitas duas incidências perpendiculares entre si (Figura 1). Com o diagnóstico radiográfico foi possível classificar clínico/cirurgicamente estas fraturas (Quadro 2).



Figura 1 – Incidências radiográficas do cão número 11 com fratura tibial. Incidência A projeção craniocaudal. Incidência B projeção mediolateral.

Para inclusão dos pacientes no estudo, estes não poderiam ter recebido nenhum tipo de terapia antiinflamatória com glicocorticóide nos últimos seis meses, não ter recebido anestesia com etomidato e não ter sido submetido a terapia com antifúngico especialmente com cetoconazol.

Quadro 2 – Classificação clínico cirúrgica das fraturas dos pacientes submetidos ao experimento.

Paciente	Classificação clínico cirúrgica da fratura tibial
1	Fratura por cisalhamento do maléolo medial tibial, com exposição óssea da tíbia e tarsos. MPD
2	Fratura diafisária distal, completa, simples, oblíqua, exposta. MPD
3	Fratura por cisalhamento do maléolo medial tibial, com exposição óssea da tíbia e tarsos. MPE
4	Fratura diafisária média, completa, múltipla, cominutiva, fechada. MPD
5	Fratura diafisária distal, completa, simples, oblíqua, fechada. MPD
6	Fratura diafisária média, completa, simples, oblíqua, fechada. MPE
7	Fratura diafisária proximal, completa, múltipla, cominutiva, fechada. MPD
8	Fratura diafisária média, completa, simples, transversa, fechada. MPD
9	Fratura diafisária proximal, completa, simples, oblíqua, fechada. MPE
10	Fratura diafisária distal, completa, simples, espiral, fechada. MPE
11	Fratura diafisária proximal, completa, múltipla, cominutiva, fechada. MPD
12	Fratura diafisária média, completa, simples, oblíqua, fechada. MPD

MPD- Membro pélvico direito. MPE- Membro pélvico esquerdo.

Realizou-se coleta de 10 mililitros de sangue venoso através de punção da veia cefálica, esta amostra (A) foi subdividida em três, sendo uma contendo dois mililitros em solução de EDTA, outros dois mililitros contendo fluoreto de sódio e uma terceira de seis mililitros contendo heparina sódica para realização de hemograma, glicemia/triglicerídeos e cortisol, respectivamente.

Todos os pacientes receberam terapia analgésica e antiinflamatória através da administração subcutânea de cloridrato de tramadol dois mg.kg^{-1} administrado a cada oito horas e meloxicam 0,2 mg.kg^{-1} administrado a cada 24 horas. Realizou-se imobilização temporária com bandagem de Robert Jones para reduzir o edema no membro e estabilização temporária dos fragmentos ósseos. O intervalo de tempo entre a primeira coleta sanguínea e o procedimento cirúrgico de osteossíntese tibial foi inferior a 24 horas.

A segunda coleta (B) ocorreu após a implantação de cateter venoso na veia cefálica, permanecendo no animal até a coleta (D), sendo coletados oito mililitros de sangue venoso onde foram divididos em dois mililitros em tubo contendo fluoreto de sódio e o restante em tubo contendo heparina sódica, esta coleta ocorreu logo após a indução anestésica. A indução anestésica ocorreu por administração de propofol (4mg.kg^{-1}).

Durante todo o procedimento cirúrgico foi administrado fluidoterapia de suporte com ringer com lactato a um volume aproximado de 10 ml/kg/hora, administrado na veia cefálica do membro oposto ao do cateter de coleta.

Todos os pacientes receberam anestesia epidural com cloridrato de lidocaína (1ml para cada 4 kg de peso corporal) e cloridrato de morfina ($0,1\text{mg.kg}^{-1}$).

A manutenção anestésica ocorreu pela administração de isoflurano vaporizado em oxigênio a 100%.

Com relação aos procedimentos cirúrgicos para redução da fratura tibial, em sete cães foi utilizada a técnica de redução aberta dos fragmentos ósseos e estabilizados através do uso de fixador esquelético externo; em quatro cães foi utilizada a técnica de redução fechada dos fragmentos ósseos e estabilização de fragmentos através da técnica de fixação esquelética externa e em um cão foi utilizado à técnica de redução aberta através da técnica de estabilização com placa de compressão dinâmica (Quadro 3).

Quadro 3 – Técnica de osteossíntese usado em cada paciente com fratura tibial.

Paciente	Técnica de osteossíntese empregada
1	Fixador esquelético externo, técnica aberta com reconstrução do tecido mole.
2	Fixador esquelético externo, técnica aberta.
3	Fixador esquelético externo, técnica aberta com reconstrução do tecido mole.
4	Fixador esquelético externo com cerclagem, técnica aberta.
5	Fixador esquelético externo, técnica fechada.
6	Fixador esquelético externo, técnica fechada.
7	Fixador esquelético externo, técnica aberta.
8	Fixador esquelético externo, técnica fechada.
9	Fixador esquelético externo, técnica aberta.
10	Fixador esquelético externo, técnica fechada.
11	Fixador esquelético externo com cerclagem, técnica aberta.
12	Placa de compressão dinâmica, com uso de oito parafusos.

Para realização da terceira coleta (C), foi padronizado um período de cinco minutos após a introdução do primeiro implante metálico na cortical tibial dos pacientes; esta coleta ocorreu conforme a segunda, sendo coletado um volume de sangue venoso de oito mililitros, sendo dividida em duas alíquotas, uma contendo dois

mililitros de sangue em fluoreto de sódio e outros seis mililitros de sangue em heparina sódica.

Ao final da realização do procedimento cirúrgico, estes pacientes permaneciam um período de 24 horas internados em gaiolas individuais, e recebiam água e ração comercial, recebiam também terapia analgésica com cloridrato de tramadol dois mg.kg^{-1} a cada 6 horas, e terapia antiinflamatória com meloxicam $0,2 \text{ mg.kg}^{-1}$.

A quarta coleta (D) era realizada 24 horas após o início do procedimento cirúrgico sendo coletados oito mililitros de sangue divididos em duas alíquotas uma contendo dois mililitros em fluoreto de sódio e outra contendo seis mililitros em heparina sódica. Após esta coleta era retirado o cateter de coleta e realizada a troca do curativo em presença dos proprietários e esclarecendo qualquer dúvida que os mesmos pudessem ter. A estes também era entregue uma prescrição com a medicação analgésica e antiinflamatória que estes pacientes deveriam receber. Os pacientes recebiam alta, porém, era comunicado aos proprietários que retornassem com estes animais após sete dias do procedimento cirúrgico para realização da quinta coleta (E) de sangue venoso.

Todas as amostras eram encaminhadas ao Laboratório de Análises Clínicas-LACVET/UFSM, em um período inferior a 30 minutos após a coleta. Nas amostras contendo fluoreto de sódio eram realizadas as análises de triglicérideo e glicose.

As amostras contendo heparina sódica eram centrifugadas, e o plasma dividido em duas alíquotas que eram congeladas a $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$, o tempo de armazenamento das amostras congeladas eram inferiores a 60 dias. Este plasma era posteriormente encaminhado ao laboratório encarregado pela realização do exame imunoquimioluminescência das amostras para determinação do cortisol plasmático.

4. RESULTADOS

Dentre os 12 cães submetidos à redução de fratura através de imobilização interna, seis cães eram sem raça definida (SRD), três Labradores, dois Rotweiller e um Fila brasileiro (Gráfico 1).

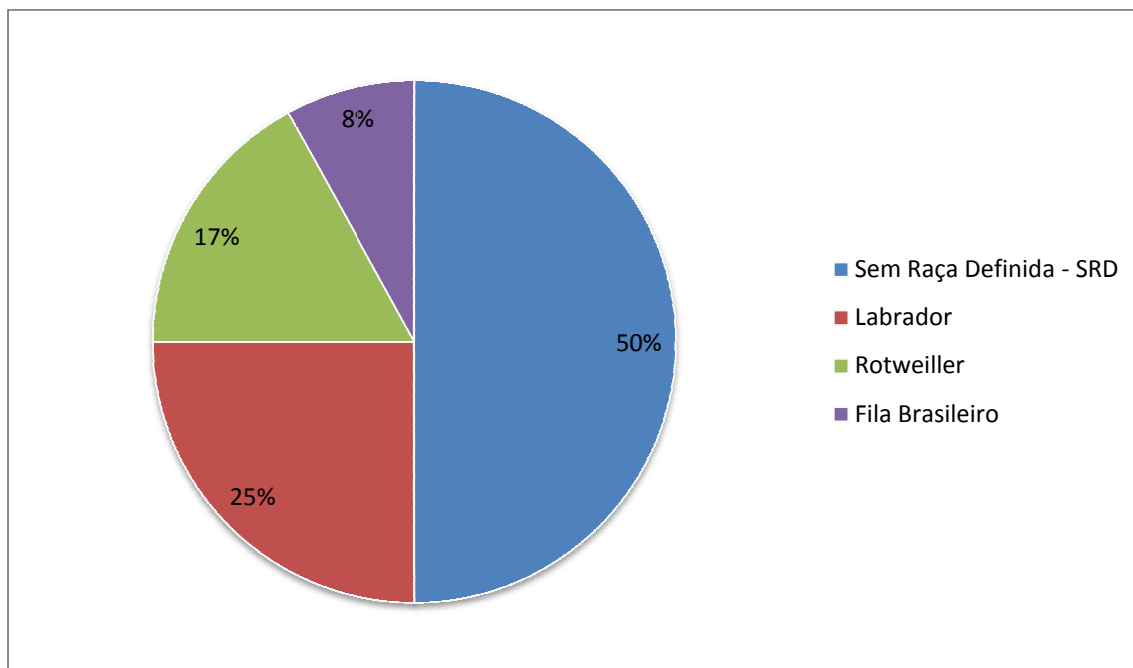


Gráfico 1 – Distribuição percentual dos animais conforme as diferentes raças, dos pacientes submetidos a cirurgia de osteossíntese tibial.

Na faixa etária dos pacientes, três animais tinham até um ano de idade; sete estavam no intervalo de um ano a cinco anos; e dois animais apresentavam mais de cinco anos de idade (Gráfico 2).

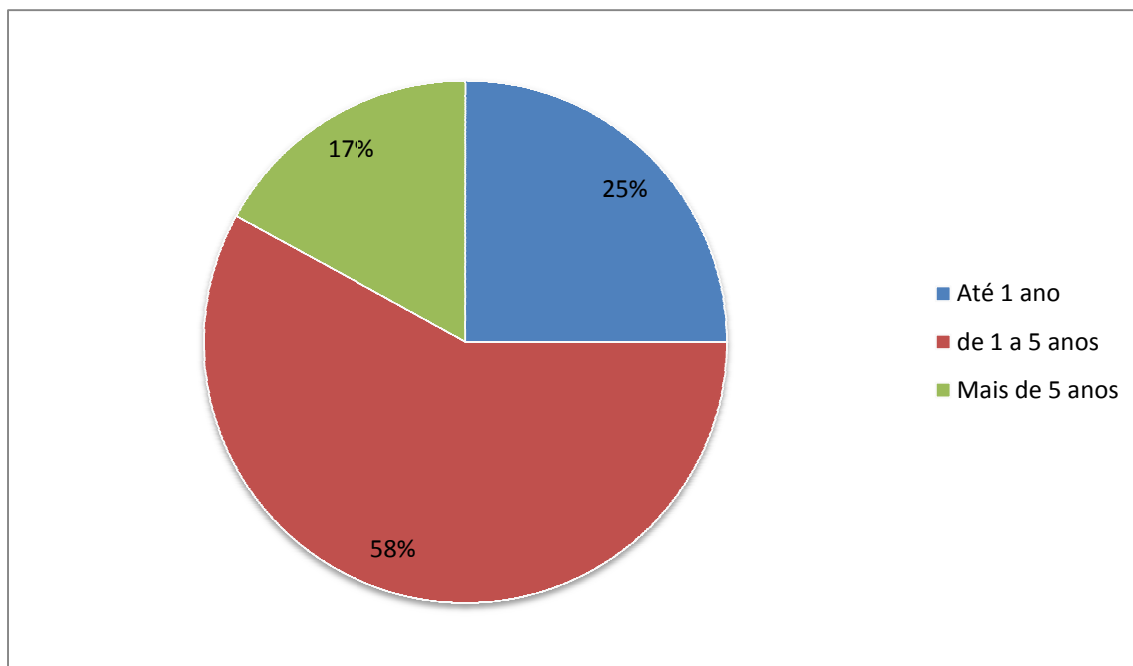


Gráfico 2 – Distribuição percentual dos animais conforme a faixa etária dos pacientes submetidos à cirurgia de osteossíntese tibial.

Com relação ao sexo dos animais que foram submetidos à redução de fratura através de osteossíntese tibial, observou-se que, dos 12 pacientes, oito eram machos e quatro eram fêmeas (Gráfico 3).

Dentre os 12 animais utilizados na pesquisa, dois cães apresentaram massa corporal entre 10 e 15 quilogramas, cinco animais entre 15 e 20 quilogramas, dois cães entre 20 e 25 quilogramas, um animal entre 25 e 30 quilogramas e dois com massa corporal superior a 30 quilogramas (Gráfico 4).

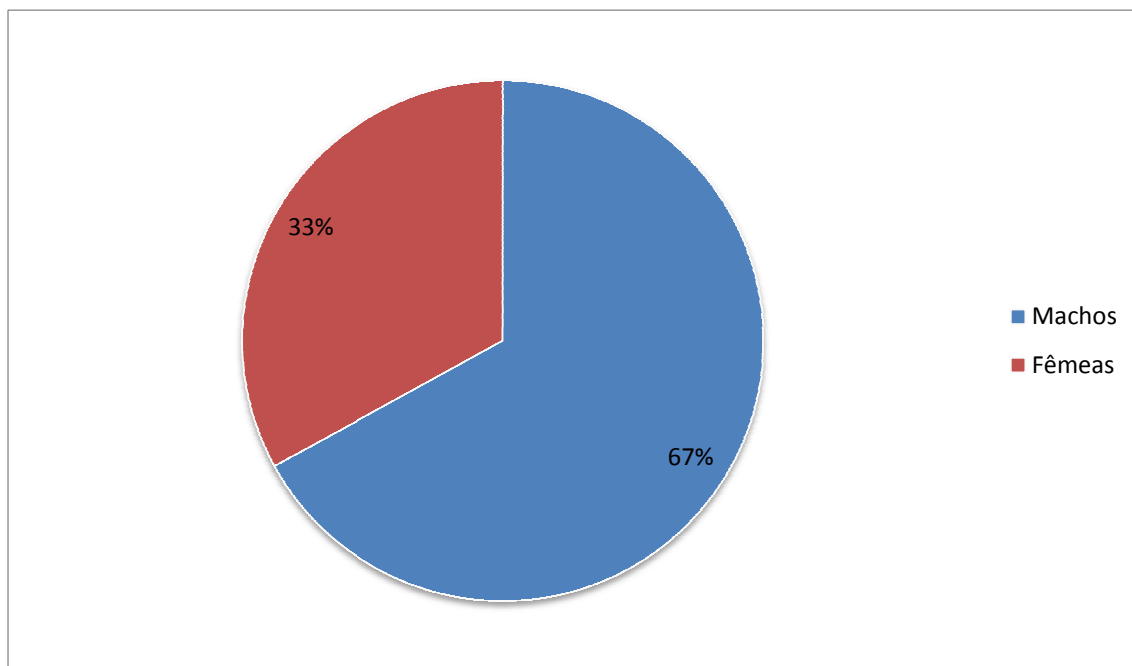


Gráfico 3 – Distribuição percentual entre machos e fêmeas dos animais submetidos à redução de fratura através da técnica de osteossíntese tibial.

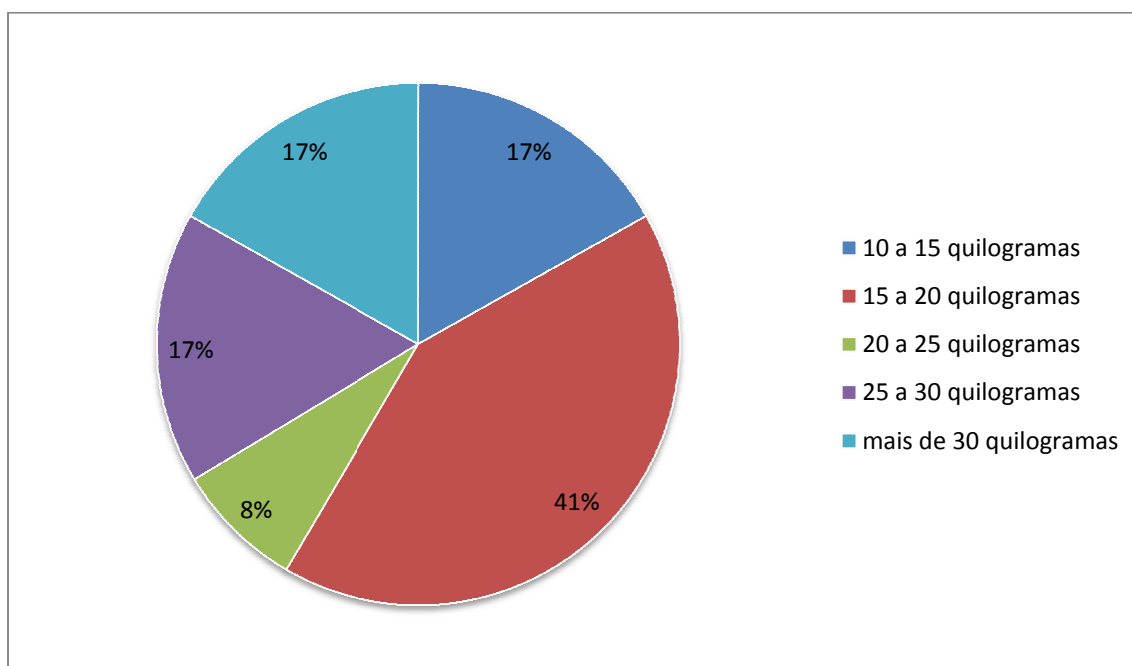


Gráfico 4 – Distribuição percentual entre massas corporais dos animais submetidos à redução de fratura através da técnica de osteossíntese tibial.

A porção diafisária da tíbia pode ser dividida didaticamente em três regiões distintas de acordo com a localização anatômica, permitindo a classificação das fraturas de acordo com essas regiões em proximal, média e distal. O Gráfico 5 representa as porcentagens das fraturas em cada região tibial. O Gráfico 6 mostra as porcentagem de qual membro pélvico ocorreu a fratura de tíbia.

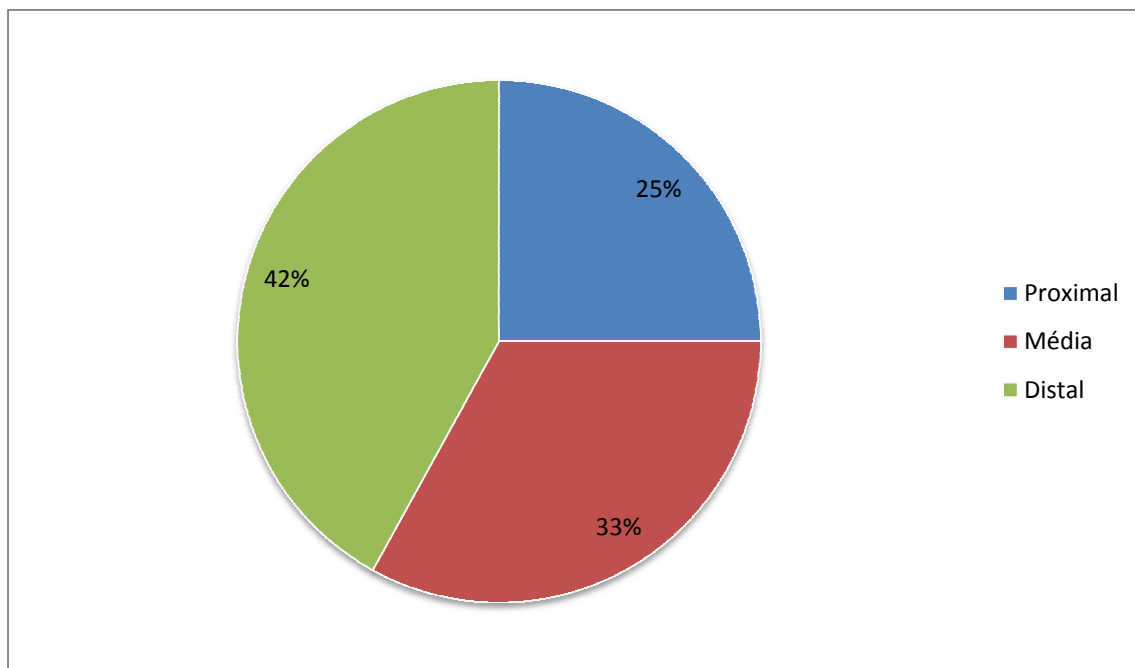


Gráfico 5 – Distribuição percentual da localização anatômica das fraturas diafisárias dos pacientes que foram submetidos à osteossíntese tibial.

Analisando o tipo de fratura, cinco pacientes apresentaram fratura oblíqua, em três cães ocorreu fratura múltipla cominutiva, em dois cães ocorreu fratura por cisalhamento do maléolo tibial medial, um apresentou fratura transversa e um com fratura em espiral (Gráfico 7).

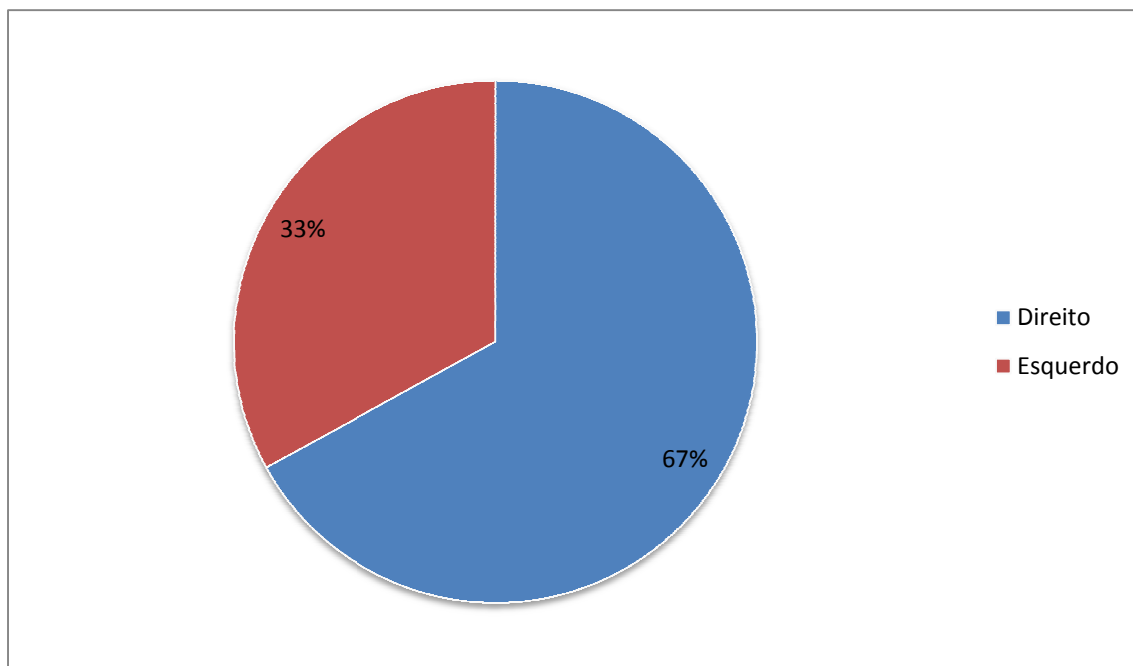


Gráfico 6 – Distribuição percentual dos membros pélvicos acometidos com fraturas diafisárias dos pacientes que foram submetidos à osteossíntese tibial.

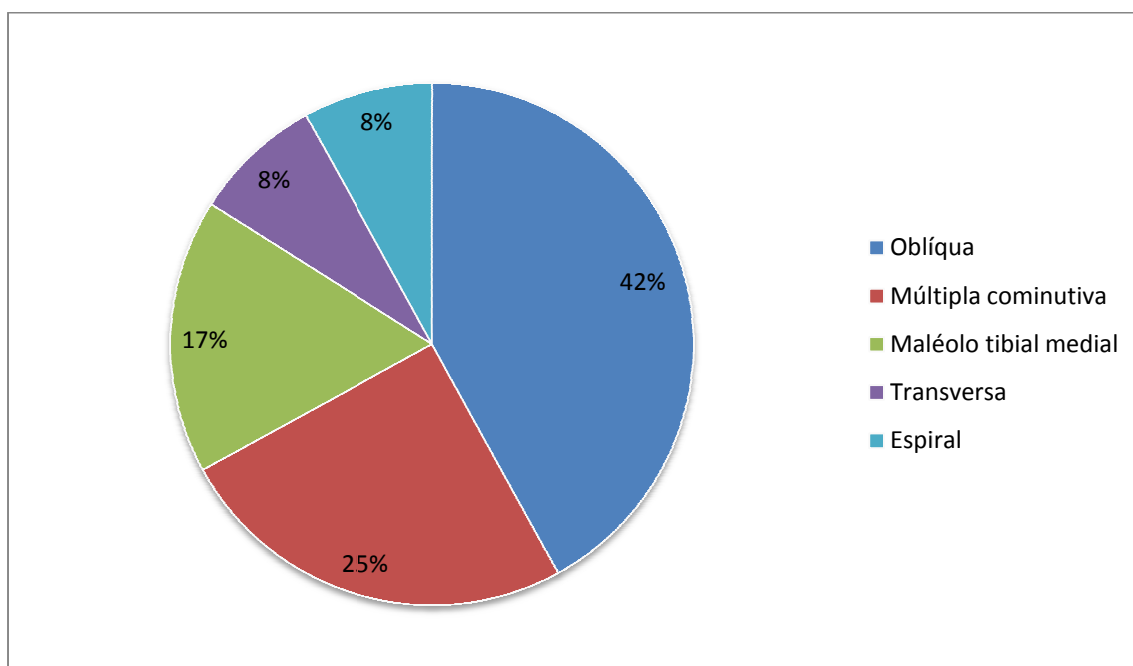


Gráfico 7 – Distribuição percentual dos tipos de fraturas diafisárias dos pacientes submetidos a osteossíntese tibial.

Na análise dos resultados estatísticos, observou-se que o cortisol não apresentou diferença estatística significativa ($p>0,05$) entre os tempos e entre os animais. Os valores de glicose não apresentaram diferença estatística significativa ($p>0,05$) entre os tempos e entre os animais. Quando avaliados os valores séricos de triglicerídeos, não foi observada diferença estatística significativa ($p>0,05$).

Quando avaliadas as três substâncias juntas (cortisol, glicose e triglicerídeos), e correlacionadas com os tempos, não foram encontradas diferenças estatísticas significativas ($p>0,05$) em nenhum dos tempos.

Quando observados os resultados de cada paciente, é possível observar que não existe uma uniformidade entre os cães, porém quando observados os valores médios de cada tempo é possível verificar que na primeira amostra coletada (A), o cortisol apresenta a maior média (Gráfico 8), seguido de médias decrescentes até o valor (E).

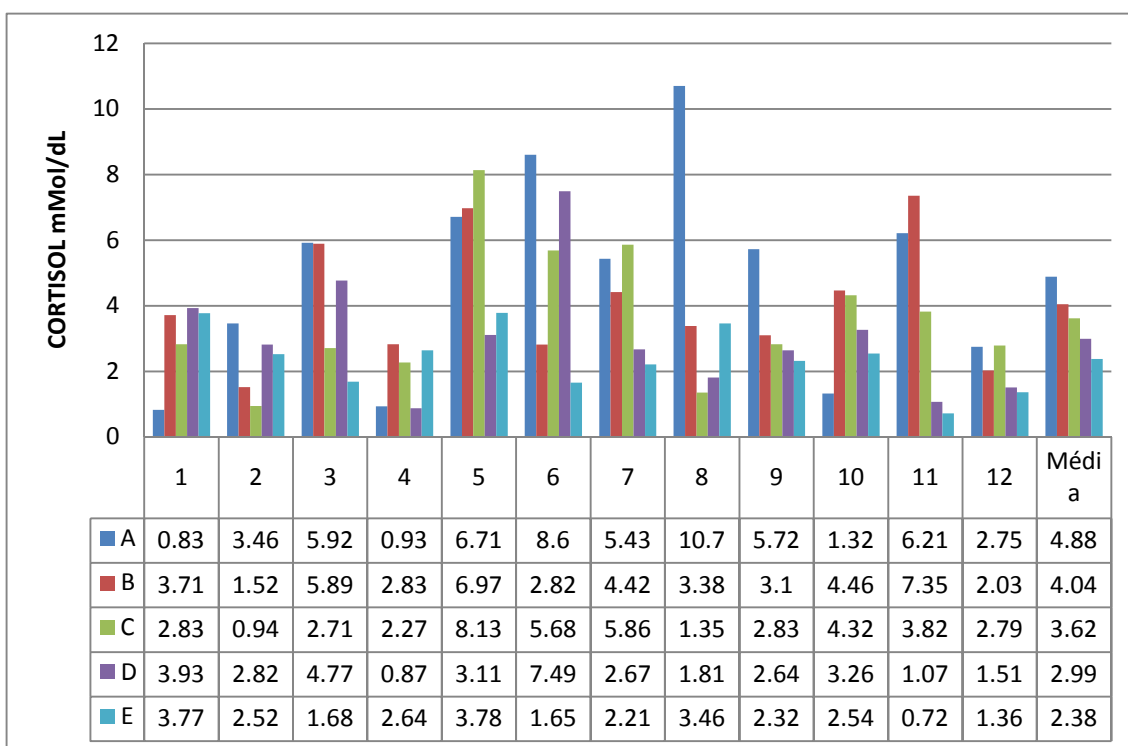


Gráfico 8 – Valores do glicocorticoide cortisol, em cada tempo e em cada paciente, e valores médios em cada tempo.

Quanto à avaliação dos níveis plasmáticos da glicose, observa-se que ocorre uma grande oscilação dos valores entre os animais e entre os tempos (Gráfico 9).

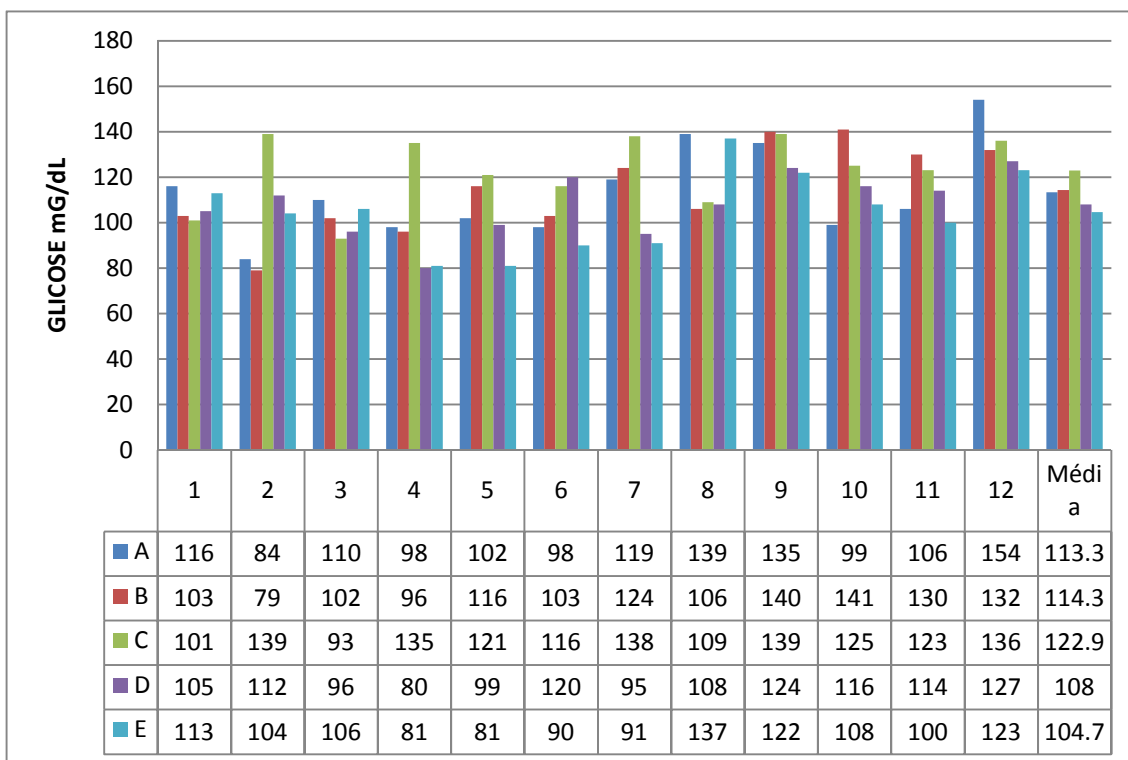


Gráfico 9 – Valores do metabólito glicose, em cada tempo e em cada paciente, e valores médios em cada tempo.

Na avaliação dos níveis plasmáticos de triglicerídeos, observa-se uma grande oscilação entre as amostras e os animais (Gráfico 10).

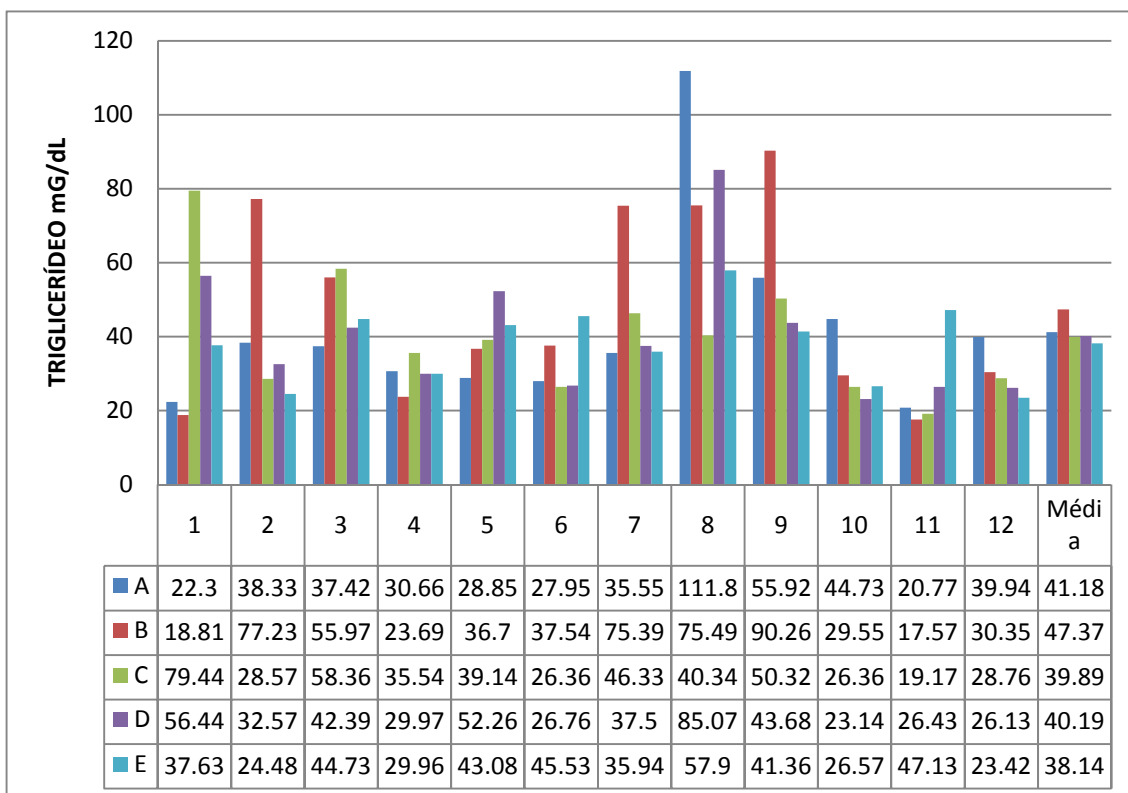


Gráfico 10 – Valores do metabólito triglicerídeo, em cada tempo e em cada paciente, e valores médios em cada tempo.

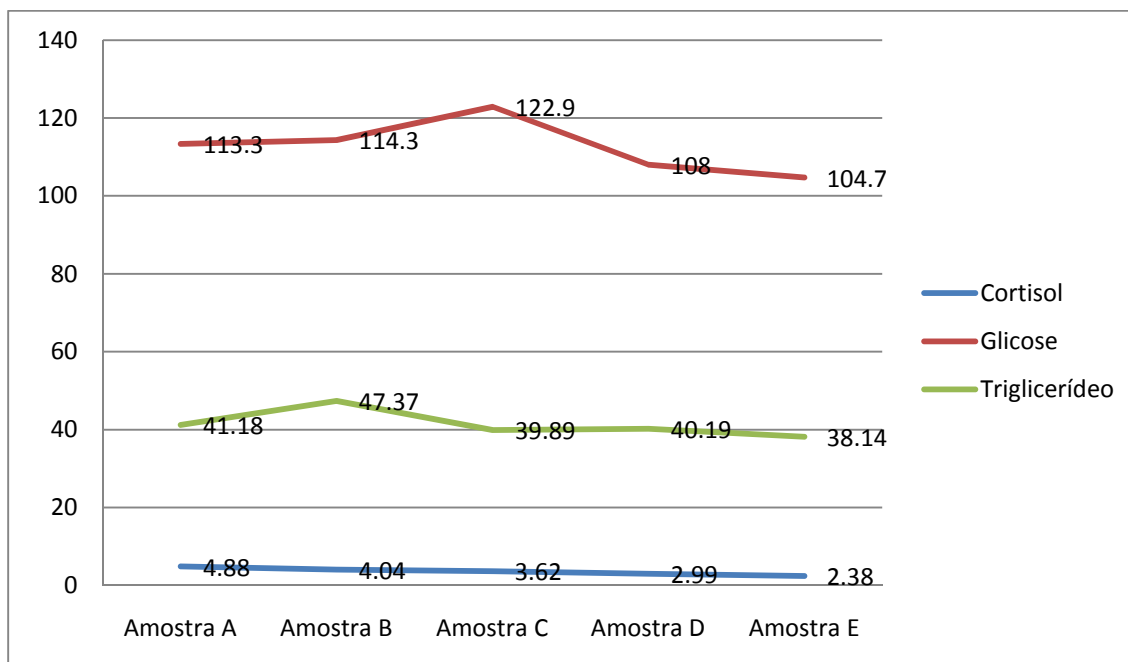


Gráfico 11 – Valores médios de cortisol, glicose e triglicerídeo em cada amostra coletada.

5. DISCUSSÃO

Em relação ao padrão racial dos animais, observou-se que metade dos pacientes incluídos no experimento era sem raça definida, isso ocorreu devido a grande casuística destes animais no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Santa Maria. Outras raças observadas foram a Labrador, Rotweiller e Fila Brasileiro.

A faixa etária de maior ocorrência foi de cães com até cinco anos de idade. Esse resultado foi semelhante ao observado por Phillips (1979), que afirmou que aproximadamente 80% dos animais com fratura tem menos de três anos de idade. Relatou, ainda, que os machos são mais predispostos a apresentarem fratura do que fêmeas, fato observado neste experimento, onde a maioria dos animais acometidos eram machos.

Com relação à massa corporal dos pacientes, a faixa de peso de maior acometimento foi entre 15 e 20 quilogramas. Isso ocorreu porque foi adotado como critério de inclusão no estudo, que os pacientes deveriam ter peso corporal superior a 10 quilogramas, para que o volume sanguíneo coletado não acarretasse alterações hematológicas e hemodinâmicas. Este método de inclusão também foi utilizado por Sibanda et al. (2006), que selecionaram apenas cães com peso superior a 12 quilogramas.

Harasen (2003) observou que as fraturas tibiais mais comumente observadas na rotina ortopédica são as oblíquas e transversas; neste experimento foi observado uma porcentagem considerável de fraturas oblíquas, porém as fraturas transversas não apresentaram uma incidência alta. Este mesmo autor relata uma incidência de 38% de fraturas múltiplas cominutivas, fato também observado com 25% dos pacientes acometidos por este tipo de fratura neste estudo.

Dentre as técnicas de estabilização de fraturas tibiais, os fixadores esqueléticos externos e as placas de compressão são as técnicas mais indicadas. Os fixadores externos representam uma boa alternativa, visto que esta técnica apresenta grande maleabilidade de aplicação. Harasen (2002) relata que dentre as técnicas de redução tibial minimamente invasiva, os fixadores esqueléticos externos podem ser empregados,

principalmente em fraturas oblíquas, transversas e cominutivas, sem haver necessidade de se acessar o foco de fratura, esta técnica preserva a vascularização dos fragmentos ósseos e não interrompe o processo cicatricial já iniciado.

Dentre os critérios de inclusão dos pacientes estavam: valores dos perfis hematológicos estivessem dentro dos padrões de normalidade, não terem recebido nenhum tipo de terapia antiinflamatória com glicocorticóide em um período mínimo de seis meses, não ter recebido anestesia com etomidato e não ter recebido terapia com antifúngico especialmente cetoconazol (YEAGER et al., 2004; ANTI et al., 2008). Estes fármacos quando administrados nos pacientes, alteram a dinâmica da resposta neuroendócrina, especialmente pela redução da sensibilização do ACTH nas células da zona fasciculada das adrenais.

O procedimento cirúrgico é um dos mais potentes ativadores de secreção de ACTH e cortisol e o aumento destes hormônios na corrente sanguínea ocorre minutos após o início do procedimento cirúrgico (DESBOROUGH, 2000). Esta elevação não foi observada e a principal justificativa pode estar relacionada à administração de anestesia epidural, que comprovadamente reduz os valores de cortisol pelo bloqueio sensitivo das fibras nervosas aferentes (SIBANDA et al., 2006; BERGMANN et al., 2007).

Com relação aos tempos de coleta das amostras, observou-se que as amostras A dos animais de números 2, 3, 6, 8 e 9, apresentaram os maiores valores de cortisol dentro das amostras analisadas. Isto já era esperado, pois quando os animais chegavam para o atendimento já apresentavam o processo patológico instalado. Esses resultados foram relatados por Desborough (2000), onde qualquer fator estressante ao organismo pode desencadear a resposta neuroendócrina, especialmente fatores de médio a alto estímulo doloroso, como neste caso de fratura tibial.

Quando analisada a amostra B, é possível observar que os animais de número 4, 10 e 11 apresentaram os maiores valores de cortisol plasmático dentro das amostras analisadas. Este acréscimo foi relatado por Stocche et al. (2001) que observaram que, em humanos, a simples ansiedade e medo destes pacientes com o procedimento cirúrgico já aumenta a concentração plasmática de catecolaminas e conseqüentemente a secreção de ACTH e cortisol. Fato parecido pode ter ocorrido com estes pacientes, que ficavam confinados em gaiola por um período de até 24 horas, para a realização do procedimento cirúrgico.

Na amostra C, observou-se que os animais 5, 7 e 12, apresentaram os maiores valores de cortisol plasmático quando avaliados aos outros tempos dos respectivos animais, este resultado condiz com o relatado por Mattos Jr. et al. (2009) que observaram que a estimulação periosteal acarreta maior resposta dolorosa. Porém quando analisado que estes pacientes estavam sobre anestesia epidural estes resultados se contradisseram aos observados por Sibanda et al. (2006) e por Bergmann et al. (2007).

Com relação à amostra D, apenas o animal número 1 apresentou aumento nesta amostra, porém quando comparado com as outras amostras deste animal, observou que esta amostra apresentou apenas um pequeno acréscimo em relação as outras amostras, e que este acréscimo pode estar associado a manipulação deste paciente no pós-operatório para realizar a coleta da amostra.

Na avaliação da amostra (E), não foi observado aumento em nenhum animal, quando analisado a média desta amostra, foi possível observar que estas apresentam um valor similar as amostras controle do experimento realizado pelos autores Mattos Jr. et al. (2009).

Quando comparados os valores das amostras de glicose com as amostras de cortisol, não foi possível observar similaridade entre as oscilações das duas substâncias nos tempos A, B e C. Porém nos tempos D e E os valores de glicose decresceram com certa similaridade aos do cortisol. Estes resultados contradizem aos observados por Devitt et al. (2005), que afirmaram que as concentrações de cortisol e de glicose são importantes mensurações do estresse cirúrgico, estes autores também relatam que os valores de glicose reduzem significativamente após 6 horas do final do procedimento cirúrgico, fato que também ocorreu neste experimento.

Na comparação dos valores das amostras de triglicerídeo com as de cortisol, não foi possível observar uma similaridade entre estas duas substâncias em nenhum dos tempos. Estes resultados são diferentes aos expostos por Guyton & Hall (2006) que ressaltam que os elevados níveis de cortisol mobilizam ácidos graxos dos tecidos adiposos para o catabolismo energético. Porém estes autores relatam que este mecanismo leva certo período para se tornar funcional. O que pode ter ocorrido durante o experimento foi que os pacientes não necessitaram deste aumento do catabolismo energético para suprir a necessidade de energia para as células.

6. CONCLUSÕES

Em relação ao efeito do cortisol, glicose e triglicerídeo na resposta neuroendócrina de cães com fratura tibial, é possível concluir que:

- O cortisol apresenta o maior valor numérico médio inicial com 4,88 mMol/dL, e estes valores decresceram até o oitavo dia, com 2,38 mMol/dL. Estes valores foram superiores à referência para a espécie até 48 horas. Estes valores indicam estresse neuroendócrino imediato ao trauma.

- As médias das amostras de glicose não se manifestaram de forma similar as do cortisol, durante os tempos pré e trans-cirúrgicos, porém de forma semelhante nos períodos pós-operatórios.

- As médias das amostras de triglicerídeo variaram de forma desordenada entre os tempos, não sendo observada relação com os valores médios das amostras de cortisol. Sendo que este metabólito, não representa um bom parâmetro para avaliação da resposta neuroendócrina ao estresse agudo em cães com fratura de tibia.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANTI, S. M. A.; GIORGI, R. D. N.; CHAHADE, W. H.; Antiinflamatórios hormonais: Glicocorticóides. **Einstein**, v. 6, supl. 1, p. 159 – 165, 2008.
- BEHREND, E. N. et al. Serum 17- α – hydroxyprogesterone and corticosterone concentrations in dogs with nonadrenal neoplasia and dogs with suspected hyperadrenocorticism. **Journal American Veterinary Medical Association**, v. 227, n. 11, p. 1762 – 1767, 2005.
- BERGMANN, H. M.; NOLTE, I.; KRAMER, S. Comparison of analgesic efficacy of preoperative or postoperative carprofen with or without preincisional mepivacaine epidural anesthesia in canine pelvic or femoral fracture repair. **Veterinary Surgery**, v. 36, n. 7, p. 623 – 632, 2007.
- CAMBRIDGE, A. J. et al. Subjective and objective measurement of postoperative pain in cats. **Journal American Veterinary Medical Association**, v. 217, n. 5, p. 685 – 690, 2000.
- DESBOROUGH, J. P. The stress response to trauma and surgery. **British Journal Anaesthesia**, v. 85, n. 1, p. 109 – 117, 2000.
- DEVITT, C. M.; COX, R. E.; HAILEY, J. J. Duration, complications, stress, and pain of open ovariohysterectomy versus a simple method of laparoscopic-assisted ovariohysterectomy in dogs. **Journal American Veterinary Medical Association**, v.227, n.6, p.921 – 927, 2005.
- FRANK, L. A.; DAVIS, J. A.; OLIVER, J. W. Serum concentrations of cortisol, sex hormones of adrenal origin, and adrenocortical steroid intermediates in healthy dogs following stimulation with two doses of cosyntropin. **American Journal of Veterinary Research**, v. 65, n. 12, p. 1631 – 1633, 2004.
- GRECO, D. S.; STABENFELDT, G. H. Las Glandulas endócrinas y su funcion. In: CUNNINGHAM, J. G.; KLEIN, G. B. **Fisiologia Veterinária**. 4ª Ed.Saunders Elsevier, 2004, p. 439 – 444.
- GUYTON, A. C.; HALL, J. E. Hormônios Adrenocorticais. In: _____ **Tratado de Fisiologia Médica**. 11ª Ed. Saunders Elsevier, 2006, p. 944 – 959.
- HARASEN, G. Biologic repair of fractures. **Canadian Veterinary Journal**, v.43, n.4, p.299 – 301, 2002.
- HARASEN, G. Common long bone fracture in small animal practice – part 2. **Canadian Veterinary Journal**, v.44, n.6, p.503 -504, 2003.
- KRAYCHETE, D. C.; CALASANS, M. T. A.; VALENTE, C. M. L. Citocinas pró-inflamatórias e dor. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v.46, n.3, p 199 – 206, 2006.

LEMKE, K. A.; RUNYON, C. L.; HORNEY, B. S. Effects of preoperative administration of ketoprofen on anesthetic requirements and signs of postoperative pain in dogs undergoing elective ovariohysterectomy. **American Journal of Veterinary Research**, v.221, n.9, p.1268 – 1275, 2002.

MARTIN, L. G. et al. Pituitary-adrenal function in dogs with acute critical illness. **American Journal of Veterinary Research**, v. 233, n.1, p.87 – 95, 2008.

MARTIN, L. G.; GROMAN, R. P. Relative adrenal insufficiency in critical illness. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v.14, n. 3, p. 149 – 157, 2004.

MATTOS Jr, E. et al. Evaluation of cortisol and glycemia levels of dogs anesthetized with sevoflurane and premedicated with either butorphanol or phetidine. **Semina: Ciências Agrárias**, v.30, n.2, p.425 – 434, 2009.

MUNCK, A.; GUYRE, P.M.; HOLBROOK, N.J. Physiologic functions of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions. **Endocrine Reviews**, v.5, n.1, p.25 – 44, 1984.

OLSSON, K. et al. Increased plasma concentration of vasopressin, oxytocin, cortisol and the prostaglandin F_{2α} metabolite during labour in the dog. **Acta Physiologica Scandinavica**, v.179, n.3, p.281 – 287, 2003.

PESSINA, P. et al. Cortisol secretion after adrenocorticotrophin (ACTH) and dexamethasone tests in healthy female and male dogs. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 51, n.1, p.33 – 38, 2009.

PHILLIPS, I. R., A survey of bone fractures in dog and cat. **Journal of Small Animal Practice**, v.20, n.11, p.661 -674, 1979.

SCHOEMAN, J. P.; GODDARD, A.; HERRTAGE, M. E. Serum cortisol and thyroxine concentrations as predictors of death in critically ill puppies with parvoviral diarrhea. **American Journal of Veterinary Research**, v.231, n.10, p.1534 – 1539, 2007.

SIBANDA, S. et al. The effects of preoperative extradural bupivacaine and morphine on the stress response in dogs undergoing femoro-tibial joint surgery. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 33, n.2, p.246 – 257, 2006.

STOCHE, R. M.; GARCIA, L. V.; KLAMT, J. G. Anestesia e resposta neuroendócrina e humoral ao estresse cirúrgico. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v.51, n.1, p. 59 – 69, 2001.

TIDHOLM, A.; HÄGGSTRÖM, J.; HANSSON, K. Vasopressin, cortisol, and catecholamine in dogs with dilated cardiomyopathy. **American Journal of Veterinary Research**, v.66, n.10, p.1709 – 1717, 2005.

YEAGER, M. P.; GUYRE, P. M.; MUNCK, A. U. Glucocorticoid regulation of the inflammatory response to injury. **Acta Anaesthesiologica Scandinavica**, v.48, n.7, p.799 – 813, 2004.

WANG, P. et al. Mechanism of adrenal insufficiency following trauma and severe hemorrhage. **Archives of Surgery**, v.134, n.4, p.394 – 401, 1999.

WEISSMAN, C. The metabolic response to stress: an overview and update. **Anesthesiology**, v.73, n.3, p.308 – 327, 1990

ZALOGA, G. P.; MARIK, P. Hypothalamic-pituitary-adrenal insufficiency. **Critical Care Clinics**, v.17, n.1, p.25 – 41, 2001.