

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

**OVÁRIO-HISTERECTOMIA VIDEOASSISTIDA OU
CONVENCIONAL: ANÁLISE ÁLGICA,
INFLAMATÓRIA E DE ESTRESSE OXIDATIVO**

TESE DE DOUTORADO

Fabíola Dalmolin

Santa Maria, RS, Brasil

2014

**OVÁRIO-HISTERECTOMIA VIDEOASSISTIDA OU
CONVENCIONAL: ANÁLISE ÁLGICA, INFLAMATÓRIA E
DE ESTRESSE OXIDATIVO**

Fabiola Dalmolin

Tese apresentada ao Curso de Doutorado 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 grau de
Doutor em Medicina Veterinária

Orientador: Prof. Dr. Maurício Veloso Brun

Santa Maria, RS, Brasil

2014

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

DALMOLIN, FABÍOLA

Ovário-histerectomia videoassistida ou convencional: análise álgica, inflamatória e de estresse oxidativo / FABÍOLA DALMOLIN.-2014.

79p.; 30cm

Orientador: Maurício Veloso Brun

Coorientadores: Alceu Gaspar Raiser, Ney Luis Pippi

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, RS, 2014

1. Videocirurgia 2. Anti-inflamatório 3. Dor 4. Inflamação 5. Espécies reativas I. Veloso Brun, Maurício II. Gaspar Raiser, Alceu III. Pippi, Ney Luis IV. Título.

© 2014

Todos os direitos autorais reservados a Fabíola Dalmolin. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita mediante a citação da fonte.

E-mail: fabioladalmolin@hotmail.com

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

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Tese de Doutorado

**OVÁRIO-HISTERECTOMIA VIDEOASSISTIDA OU
CONVENCIONAL: ANÁLISE ÁLGICA, INFLAMATÓRIA E DE
ESTRESSE OXIDATIVO**

elaborada por
Fabíola Dalmolin

Como requisito parcial para obtenção do grau de
Doutor em Medicina Veterinária

COMISSÃO EXAMINADORA:

Maurício Veloso Brun, Prof. Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientador)

Carlos Afonso de Castro Beck (UFRGS)

Marco Augusto da Silva Machado (UPF)

Marta Lizandra Rego Leal (UFSM)

André Vasconcelos Soares (UFSM)

Santa Maria, novembro de 2014.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me oportunizado a vida e o caminho, e ter me sustentado até aqui.

Aos meus pais, que acreditaram nos meus sonhos e me permitiram me dedicar a Medicina Veterinária, que tanto amo. A toda minha família, a minha sogra Enar e cunhados, pela convivência e incentivos durante este período!

Ao querido Saulo, que iniciou comigo esta caminhada, e assim como eu, evoluiu e dividiu muitos momentos. Espero que os próximos anos sejam um pouco mais suaves, e que possamos colher os frutos juntos!

Ao meu orientador Prof. Maurício, que me orientou e me deu forças durante este período, por ter participado ativamente desde minha chegada ao doutorado na UFSM.

A equipe que me auxiliou a conduzir este trabalho, pela competência e seriedade: Prof. Maurício, Marília, João, Saulo, Cibele, Hellen, Bianca, Andriele, Rafael, Virgínia, Prof. Cinthia, Bianca C., Marcos André, Mairi e a todos os que direta e indiretamente contribuíram. Este trabalho foi possível devido ao esforço de todos.

A todos os amigos que se fizeram presentes durante esta etapa... embora muito corrida, vocês foram muito importantes! Espero sempre tê-los por perto, e que nossos encontros possam ser frequentes.... Érika, Marília, Maurício, Luciana, Chiba, Daniel e Silvia, Martinha, Tuka, Gisélida e Fernanda, e aos colegas da pós-graduação, por este período de convivência. Aos novos amigos da FURB, pela compreensão nesta etapa final, espero que continuemos próximos!

E, principalmente àqueles que “talvez” não irão ler essas linhas, mas que com certeza foram os reais motivadores deste sonho.....

As queridas cadelas que fizeram parte deste estudo, durante este período de correria e pouco sono, vocês me fizeram muito feliz e me lembraram, novamente, que faço na vida o que eu mais amo, por vocês!

Aos meus queridos Pingo, Nala, Princesa, Rebeca, Morocho.... e ao Bobinho e a “Gorda”, meus reais incentivadores de continuar meu aprimoramento. Com certeza é por vocês e por tantos outros que nunca quero parar de estudar. Vocês merecem o melhor!

Muito obrigada a todos!

RESUMO

Tese de Doutorado
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária
Universidade Federal de Santa Maria

OVÁRIO-HISTERECTOMIA VIDEOASSISTIDA OU CONVENCIONAL: ANÁLISE ÁLGICA, INFLAMATÓRIA E DE ESTRESSE OXIDATIVO

AUTORA: Fabíola Dalmolin
ORIENTADOR: Maurício Veloso Brun
Santa Maria, 03 novembro de 2014.

A ovarioshisterectomia (OVH) é o procedimento mais realizado na rotina cirúrgica de pequenos animais e pode ser efetuada em cães por meio de celiotomia mediana ou técnicas videocirúrgicas associadas a reduzido trauma tecidual, como a técnica videoassistida. Objetivou-se comparar o processo álgico, inflamatório e de estresse oxidativo de 14 cadelas hígdas submetidas à OVH videoassistida por dois portais (GV) ou a técnica convencional (GC), medicadas com a associação de dipirona à escopolamina e meloxicam. Para tal, realizou-se revisão bibliográfica a respeito da inflamação e estresse oxidativo em videocirurgia, que se encontra no primeiro capítulo desta tese. O segundo capítulo apresenta a avaliação álgica realizada através das escalas Visual Analógica, de Melbourne e da forma simplificada da Escala de Dor Composta de Glasgow. As avaliações foram realizadas as duas, quatro, seis, oito, 12, 24, 36, 48 e às 72 horas de pós-operatório. Nenhum animal necessitou resgate analgésico durante o período de avaliação, sendo observado menor e mais curto estímulo álgico nos animais operados pela técnica videoassistida. O terceiro capítulo inclui a avaliação inflamatória e de estresse oxidativo, realizada por meio de avaliação do leucograma e mensurações de colinesterases (acetilcolinesterase e butirilcolinesterase), catalase e peroxidação lipídica durante 72h de pós-operatório. Os animais submetidos à técnica convencional apresentaram leucograma de estresse e pontual indicativo de peroxidação lipídica, enquanto que nos animais operados pela técnica videoassistida estas alterações não foram observadas. Diante dos resultados, pode-se concluir que a técnica de OVH videoassistida com dois portais em caninos promove menor e mais curto estímulo álgico, além de menor estresse cirúrgico que a técnica convencional realizada por celiotomia mediana, mesmo com uso de anti-inflamatório.

Palavras-chave: Videocirurgia. Anti-inflamatório. Dor. Inflamação. Espécies reativas.

ABSTRACT

Doctoral thesis
Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil.

TWO-PORT LAPAROSCOPIC-ASSISTED OVARIOHYSTERECTOMY IN DOGS: ASSESSMENT OF POSTOPERATIVE PAIN, INFLAMMATION AND OXIDATIVE STRESS

AUTHOR: Fabíola Dalmolin
ADVISOR: Maurício Veloso Brun
Santa Maria, November, 3th, 2014.

Ovariohysterectomy (OVH) is the most frequently procedure in surgical routine of small animals. Surgical approaches in dogs include standard median celiotomy or endosurgery, which provides reduced tissue trauma, such as the laparoscopic-assisted technique. The purpose of this research was to compare postoperative pain, inflammation and oxidative stress in 14 healthy dogs undergoing two-port laparoscopic-assisted OVH (GV) and conventional celiotomy approach (GC), through the use of dipyrone, scopolamine and meloxicam. A review regarding inflammation and oxidative stress in laparoscopic surgery, which constitute the first chapter of this thesis was performed. The second chapter consists on the assessment of postoperative pain using the visual analogue scale, the Melbourne University pain scale and the short-form of the Glasgow composite pain scale. The assessment were realized at two, four, six, eight, 12, 24, 36, 48 and 72 hours after surgery. No animal required rescue analgesia during at any time point. Lower and shorter pain scores were observed in the animals submitted to laparoscopic-assisted surgery. The third chapter includes inflammatory and oxidative stress assessed by white blood count (CBC) and cholinesterases (acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase), catalase and lipid peroxidation measurement during 72 hours following surgery. The dogs submitted to conventional technic presented inflammatory white blood countain and punctual indication of lipid peroxidation, although animals operated by laparoscopic-assisted technic did not present these alterations. According to the results, we conclude that two-port laparoscopic-assisted OVH in bitches promote lower and shorter algic stimulus and lower surgical stress than OVH by median celiotomy approach, despite the anti-inflammatory use.

Key words: Video surgery. Anti-inflammatory. Pain. Inflammation. Free radical.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

- Figura 1 – Ovário-histerectomia videoassistida com dois portais em cadela (à esquerda), e por acesso convencional (à direita). Observar feridas cirúrgicas reduzidas na técnica videoassistida com dois portais quando comparada a técnica convencional.....28

CAPÍTULO 2

- Figure 1 – Mean and standard variation of the pain scores in bitches following two-port laparoscopic-assisted (GV) or conventional (GC) OVH, in different time points, using the Visual Analogue (VAS), the University of Melbourne (UMPS) and the short-form of the Glasgow Composite Measure (CMPS-SF) pain scales54

CAPÍTULO 3

- Figura 1 – Médias e desvios padrão dos parâmetros inflamatórios e de estresse oxidativo de cadelas submetidas à OVH videoassistida com dois portais ou convencional. Contagem total de leucócitos (A), neutrófilos (B), eosinófilos (C) e linfócitos (D). Atividade sérica da acetilcolinesterase (E), butirilcolinesterase (F), catalase (G) e malondialdeído (TBARS) (H).....69

LISTA DE ANEXOS

ANEXO A –Escala Visual Analógica (EVA).....	77
ANEXO B –Escala de dor da Universidade de Melbourne	78
ANEXO C –Forma Simplificada da escala de Dor Composta de Glasgow	79

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
1.1 A ovário-histerectomia em cadelas	10
1.2 Cirurgias minimamente invasivas assistidas por vídeo: videocirurgia	10
1.3 Ovário-histerectomia por videocirurgia em cadelas	12
1.4 A avaliação da dor em animais.....	13
1.5 Resposta do organismo ao estresse cirúrgico	14
1.6 Objetivos.....	16
1.6.1 Geral	16
1.6.2 Específicos.....	17
1.7 Considerações gerais	17
2 CAPÍTULO 1 INFLAMAÇÃO E ESTRESSE OXIDATIVO NA VIDEOCIRURGIA	18
3 CAPÍTULO 2 CONVENTIONAL OR TWO-PORT LAPAROSCOPIC-ASSISTED OVARIOHYSTERECTOMY IN BITCHES: PAIN ASSESSMENT USING ANTI- INFLAMMATORY DRUGS.....	39
4 CAPÍTULO 3 BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS E INDICADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO EM CADELAS SUBMETIDAS À OVÁRIO- HISTERECTOMIA VIDEOASSISTIDA COM DOIS PORTAIS OU CONVENCIONAL TRATADAS COM ANTI-INFLAMATÓRIO	55
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	70
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71
ANEXOS	76

1 INTRODUÇÃO

1.1 A ovário-histerectomia em cadelas

A ovário-histerectomia (OVH) é procedimento cirúrgico de comum realização na medicina de animais de companhia, para o qual os benefícios e as complicações foram descritos extensivamente (DEVITT et al., 2005). Em pequenos animais, é o procedimento cirúrgico realizado com maior frequência na rotina cirúrgica de clínicas e hospitais veterinários. A contracepção cirúrgica eletiva constitui sua indicação mais comum, seguida pelo tratamento de diferentes afecções uterinas, e/ou ovarianas (LUZ et al., 2009), para prevenção de tumores mamários ou de transmissão de enfermidades congênitas, hiperplasia e prolapso vaginal, controle de anormalidades endócrinas e dermatoses (MACPHAIL, 2013), e manejo de parto distócico (HOWE, 2006).

A OVH consiste na remoção cirúrgica dos ovários e do útero. Muitas variações da técnica cirúrgica têm sido descritas, desde a abordagem tradicional via celiotomia mediana até as abordagens minimamente invasivas laparoscópicas, videoassistidas (MACPHAIL, 2013) e transvaginais por NOTES híbrida ou por acesso único (BRUN e BECK, 1999; BRUN et al., 2000; BRUN et al., 2011; SILVA et al., 2012; BASSO et al., 2014; BRUN, 2015).

Na técnica convencional de OVH por celiotomia mediana, a incisão de acesso pode englobar a metade ou o terço médio da distância entre a cicatriz umbilical e o púbis (FINGLAND, 2000). A nessa abordagem, a dor pós-operatória é uma das complicações mais comuns no pós-operatório imediato e frequentemente requer administração complementar de analgésicos, técnica conhecida como analgesia de resgate (DEVITT et al., 2005).

1.2 Cirurgias minimamente invasivas assistidas por vídeo: videocirurgia

Se comparada a abordagem convencional, as técnicas minimamente invasivas em cães tem vantagens que incluem menor dor pós-operatória, menor risco de deiscência e hemorragia, além de encurtar a hospitalização e a convalescença (DAVIDSON et al., 2004).

A cirurgia minimamente invasiva teve a sua origem na endoscopia, que por sua vez se iniciou na observação de cavidades utilizando recursos como espéculos e instrumentos similares (ALVES et al., 2012). Em 1986 foi desenvolvida câmera com “*chip*” de computador acoplada ao laparoscópio, dando início à era da cirurgia videoassistida (GOMELLA e STRUP, 1994). Os primeiros trabalhos envolvendo a realização de técnicas laparoscópicas em cães datam da década de 1970. Inicialmente, as técnicas laparoscópicas foram usadas como procedimentos de diagnóstico, permitindo aos cirurgiões visualizar as vísceras abdominais e os ovários em particular. O desenvolvimento do equipamento cirúrgico tornou possível realizar estas cirurgias com precisão (ALVES et al., 2012). Na sequência, passou-se a inspeção de órgãos abdominais e a realização de biópsias (GRAUER, 1983), sendo posteriormente, descritos procedimentos mais avançados tais como orquiectomia (PEÑA et al., 1998), oclusão do ducto deferente, ligadura tubárica (SEAGER, 1990), ovariectomia (USON et al., 1992) e ovariohisterectomia (BRUN et al., 2000), dentre outros.

Embora a cirurgia laparoscópica proporcione vantagens, esta técnica está associada a alterações fisiológicas significativas bem como a complicações que normalmente não são observadas na cirurgia convencional, mas que podem pôr em risco a vida do paciente (DUQUE e MORENO, 2015). Dentre elas podem ser citadas o pneumoperitônio causado pela insuflação de dióxido de carbono, que cria pressão intrabdominal, pode causar complicações hemodinâmicas e pulmonares (HOLTHAUSEN et al., 1999), além de respostas neuro-humorais. Algumas complicações na instrumentação cirúrgica também podem ocorrer, como lesões vasculares, gastrintestinais, geniturinárias, nervosas, além de enfisema subcutâneo, pneumotórax, pneumomediastino e pneumopericárdio ou embolia gasosa. O posicionamento do paciente também pode causar complicações durante a cirurgia (DUQUE e MORENO, 2015).

Entretanto, os problemas cardiorrespiratórios decorrentes da insuflação da cavidade peritoneal são reduzidos se realizada intubação traqueal, juntamente com ventilação adequada (LEIGHTON, 1992). Adicionalmente, de acordo com estudos recentes, a incidência de complicações pulmonares no período pós-operatório, geralmente é menor após uma cirurgia laparoscópica, quando comparada a procedimentos convencionais (DUQUE e MORENO, 2015).

1.3 Ovário-histerectomia por videocirurgia em cadelas

A OVH em cães utilizando cirurgia minimamente invasiva tem sido descrita desde a década de 90 (BRUN & BECK, 1999; BRUN et al., 2000; BRUN et al., 2011; BRUN, 2015).

Nos últimos anos, várias técnicas laparoscópicas, incluindo as videoassistidas, foram desenvolvidas para utilização em pequenos animais (AUSTIN et al., 2003; DEVITT et al., 2005; FREEMAN et al., 2010; MACPHAIL, 2013), sendo notórios os avanços tecnológicos utilizados em cães. São descritas diferentes técnicas por videocirurgia, com emprego de um a quatro portais de acesso abdominal e pelo acesso transvaginal (NOTES) híbrido ou único (BRUN et al., 2000; BRUN et al., 2011; SILVA et al., 2011; SILVA et al., 2012; BASSO et al., 2014).

As cirurgias videoassistidas mantêm os atributos da cirurgia minimamente invasiva permitindo que procedimentos complexos possam ser executados de maneira mais eficiente com o uso de manobras extracorpóreas (SILVA et al., 2011). À semelhança das técnicas realizadas exclusivamente via laparoscópica, estes procedimentos apresentam mínima invasão cirúrgica, e envolvem uma etapa intracavitária e outra extracorpórea (FREEMAN, 1999; DEVITT et al., 2005). Tais técnicas reduzem a complexidade da cirurgia minimamente invasiva e podem ser rotineiramente utilizadas, como no caso da OVH videoassistida.

Brun (2015) cita que este é o procedimento para OVH em pequenos animais mais versátil e tecnicamente mais fácil considerando as técnicas laparoscópicas com quatro portais, três portais, NOTES híbrida (*natural orifice transluminal endoscopic surgery*) e NOTES total. A técnica pode ser aplicada em praticamente todos os animais independente do seu tamanho e conformação física, utilizando-se instrumentos videocirúrgicos básicos. Além disso, demanda pouco tempo operatório por apresentar uma etapa convencional, sendo pouco lesivo ao paciente, pois necessita de apenas dois portais de acesso, podendo em determinados casos, ser completado com dois portais de três milímetros.

A técnica pode ser realizada utilizando-se dois trocartes posicionados na linha média, um laparoscópio, uma pinça de apreensão e diatermia bipolar e mesa que permita a rotação do eixo longitudinal do paciente posicionado em decúbito dorsal, para o lateral esquerdo ou direito. Em um estudo, a técnica foi considerada menos complexa e reduziu a dor pós-operatória; além disso, a duração da cirurgia, da anestesia e a taxa de complicações cirúrgicas foram semelhantes às aquelas observadas na realização da técnica cirúrgica convencional (DEVITT et al., 2005).

Uma característica que recai sobre essa conduta cirúrgica é a necessidade de ampla tricotomia, a qual se estende desde o terço final do tórax e bilateralmente até a altura dos processos transversos, além de incluir toda a região abdominal inguinal, pregas inguinais e aspecto cranial dos membros anteriores. Isto é necessário porque durante a etapa de exposição dos vasos ovarianos serão aplicadas suturas transparietais em determinado(s) ponto(s) do flanco, locais que irão variar de acordo com a conformação do paciente e características dos órgãos reprodutivos. É muito difícil prever o ponto exato em que será aplicada a transparietal com o animal sem o abdome insuflado para delimitar uma tricotomia menos extensa (BRUN, 2015).

1.4 A avaliação da dor em animais

A avaliação da dor na medicina veterinária fica a critério do médico veterinário que avalia a dor experimentada pelo paciente, portanto está restrita à ponderação de um observador. Com a finalidade de minimizar as diferenças entre os observadores e fazer o processo de avaliação mais criteriosa possível, foram propostas diversas escalas para o reconhecimento da dor (FLÔR et al., 2012).

Uma das escalas unidimensionais frequentemente empregada para mensurar a dor é a Escala Visual Analógica (EVA) (FLÔR et al., 2012) (Anexo 1), um sistema de pontuação subjetivo utilizado para quantificar a intensidade da dor (GAYNOR e MUIR, 2009). Esta escala consiste em uma linha reta horizontal de 100 milímetros de comprimento que descreve a intensidade dolorosa, variando entre ausência de dor (0mm) e a pior dor possível (100mm). Na medicina veterinária seu uso depende de um observador para identificar e interpretar comportamentos de dor no paciente (HOLTON et al., 1998).

A escala de dor da Universidade de Melbourne (UMSP) (FIRTH e HALDANE, 1999) é uma proposta baseada em respostas comportamentais e fisiológicas específicas, incluindo descritores múltiplos em categorias (Anexo 2). Esta escala é constituída por seis categorias, sendo que cada uma contém descritores de vários comportamentos, aos quais são atribuídos valores numéricos. O avaliador examina os descritores em cada categoria e decide se um deles se aproxima do comportamento do cão (FLÔR et al., 2012). Tais categorias contam com observações comportamentais que limitam assim a interpretação e propensão do observador, além de avaliar mudanças no comportamento ou na conduta do paciente (GAYNOR e MUIR, 2009).

A Escala de dor de medida composta de Glasgow é baseada em sinais comportamentais específicos que se acredita representarem a dor no cão. Os comportamentos inclusos nesta são derivados de um questionário aplicado à médicos veterinários, e as palavras utilizadas para descrever o comportamento dos animais são simples, evitando duplas interpretações. Os observadores identificam a presença ou ausência de um comportamento, limitando a interpretação (FLÔR et al., 2012). Buscando aumentar sua praticidade no uso clínico, desenvolveu-se a escala simplificada de Glasgow (CMPS-SF). Consiste num questionário baseado em cinco categorias de comportamento, avaliando o comportamento espontâneo do animal, de forma interativa a mobilidade e a resposta à palpação, além da impressão geral do observador quanto à postura e atividade do animal (Anexo 3) (REID et al., 2007).

1.5 Resposta do organismo ao estresse cirúrgico

É reconhecido que o estresse vem em uma infinidade de formas, e seja parte integrante de todas as doenças e traumas (THOMAS e BALASUBRAMANIAN, 2003). Assim, durante e após procedimentos cirúrgicos, verifica-se resposta fisiológica ao estresse que envolve a ativação inflamatória, endócrina, metabólica e mediadores imunológicos, que são parte da chamada resposta ao estresse cirúrgico (KÜCÜKAKIN, 2007).

As respostas fisiológicas ao trauma são manifestações de eventos celulares e moleculares complexos. As células inflamatórias, incluindo macrófagos, células polimorfonucleares, linfócitos, são recrutadas para o local da lesão e secretam mediadores inflamatórios, assim como o endotélio do sítio de lesão. Adicionalmente, existe interação entre hormônios, citocinas e produtos celulares, tais como proteases, eicosanoides, fatores de crescimento, reagentes de fase aguda e radicais livres (KIM E DEUTSCHMAN, 2013).

Considera-se que existe facilidade no diagnóstico da inflamação aguda, caracterizada por rubor, tumor, calor, dor e perda de função. Entretanto, quando o processo inflamatório é de baixo grau e localizado em órgãos internos, é difícil a detecção e confirmação da presença de inflamação, especialmente quando há baixo grau de inflamação sistêmica. Diante desta condição, estudos verificaram que o aumento da atividade das enzimas acetilcolinesterase (AChE) e butirilcolinesterase (BChE) no plasma e tecidos, pode servir como marcadores de baixo grau de inflamação sistêmica (DAS, 2007).

A acetilcolina, o principal neurotransmissor vagal, tem importante papel na atenuação da liberação de citocinas pró-inflamatórias, tais como o fator de necrose tumoral, interleucina-1, interleucina-6 e interleucina-18, macrófagos ativados por endotoxinas, sem afetar a produção de interleucina-10, uma citocina anti-inflamatória. Esta inibição é devido à ligação da acetilcolina ao receptor $\alpha 7nAChE$, presente em macrófagos, sendo a inibição dependente da dose (ULLOA, 2005).

A AChE é colinesterase específica que hidrolisa principalmente os ésteres de acetilcolina e tem níveis elevados no tecido nervoso e em eritrócitos. Já a BChE é colinesterase não específica, denominada pseudocolinesterase, que catalisa a hidrólise de outros ésteres, bem como a acetilcolina. Assim, AChE principalmente, mas também a BChE, hidrolisam a acetilcolina ligada aos receptores pós-sinápticos para regular a concentração de transmissor na sinapse nervo (COSTA, 2012). Dado o papel importante da acetilcolina na supressão de inflamação, a mensuração das colinesterases que regulam a concentração desta enzima pode ser útil, mesmo que indiretamente (ULLOA, 2005). Adicionalmente, tem-se conhecimento de que a BChE é menos eficiente na hidrólise da acetilcolina em baixas concentrações, mas altamente eficiente nas altas concentrações. Assim, a atividade da BChE aumenta e ocupa o lugar da AChE na degradação da acetilcolina, quando a AChE é inibida (DAS, 2007).

Anteriormente acreditava-se que a resposta ao estresse cirúrgico era necessária e benéfica para cirurgia. No entanto, conforme documentado em diversos estudos, os vários componentes da resposta ao estresse cirúrgico pode ser modificada, resultando em melhor função do órgão, reduzido período de convalescença e redução da morbidade (KÜCÜKAKIN, 2007).

A produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), de nitrogênio (ERN), entre outras espécies reativas, é parte integrante do metabolismo, sendo observada em diversas condições fisiológicas. EROs e ERNs apresentam importante função biológica, como na fagocitose, fenômeno em que essas espécies são produzidas para eliminar o agente agressor (VASCONCELOS et al., 2007).

Qualquer forma de trauma, incluindo as cirurgias, pode resultar em estresse oxidativo. Na cirurgia abdominal, a formação de radicais livres é aumentada, resultado da ativação de leucócitos e disfunção mitocondrial. Além disso, existe esgotamento de antioxidantes no pós-operatório devido à redistribuição e ao aumento do consumo (ARSALANI-ZADEH, 2010). Adicionalmente, certos procedimentos cirúrgicos, onde existem as fases de

isquemia/reperfusão, o estresse devido à geração de radicais livres é amplificado (KÜCÜKAKIN, 2007).

A cirurgia laparoscópica é considerada menos invasiva e, assim, teoricamente pode estar associada com menor inflamação sistêmica e preservação da função imune. No entanto, o aumento da pressão intra-abdominal durante o pneumoperitônio e a inflação-deflação pode causar isquemia e reperfusão, e conseqüentemente estresse oxidativo (ARSALANI-ZADEH, 2010). A hipóxia mesentérica e a conseqüente lesão de isquemia-reperfusão intestinal são consideradas importante causa de estresse oxidativo em videocirurgia (LEE e KIM, 2014).

Quando há desequilíbrio entre o sistema pró e antioxidante com predomínio dos oxidantes há estresse oxidativo (VASCONCELOS et al., 2007), definido como situação em que a produção de radicais livres (EROs e ERNs) ultrapassa os mecanismos necessários para desintoxicá-los (KÜCÜKAKIN, 2007). Estas espécies altamente instáveis reagem com proteínas, membranas lipídicas e DNA (ARSALANI-ZADEH, 2010), e por si só podem ser associadas a complicações como lesão do miocárdio, sepse, insuficiência renal e hepática, edema pulmonar e aumento da mortalidade (KÜCÜKAKIN, 2007).

1.6 Objetivos

Considerando a importância que a cirurgia videoassistida vem demonstrando na rotina cirúrgica de cães, sua aplicabilidade e vantagens em relação à técnica convencional e a importância do estudo da inflamação e do estresse oxidativo, tanto na cirurgia convencional quanto na videocirurgia, esta tese teve como objetivos:

1.6.1 Geral

Determinar qual procedimento cirúrgico de OVH eletiva testado, seguindo a metodologia utilizada, oferece menor estímulo doloroso pós-operatório, processo inflamatório e estresse oxidativo.

1.6.2 Específicos

Avaliar e comparar:

- O estímulo algíco pós-operatório de fêmeas canina submetidas às OVH convencional e videoassistida por dois portais mediante utilização de dipirona associada à escopolamina e meloxicam através da escala visual analógica (EVA), escala de Melbourne e escala de Dor de Medida Composta de Glasgow;
- A resposta inflamatória sistêmica das técnicas propostas no período pós-operatório por meio de hemograma e determinação da atividade das colinesterases (acetilcolinesterase e butirilcolinesterase);
- O estresse oxidativo dos animais submetidos às técnicas cirúrgicas de OSVH através da atividade da enzima antioxidante catalase (CAT) e a peroxidação lipídica (TBARS).

1.7 Considerações gerais

De acordo com os objetivos propostos, a presente Tese foi dividida em capítulos formatados em concordância com as normas de cada periódico, cujos estudos foram ou serão submetidos. Os capítulos que se seguem são referentes à:

- Capítulo 1: revisão bibliográfica, já publicada, a respeito da resposta inflamatória e de estresse oxidativo das cirurgias convencionais e videocirúrgicas.
- Capítulo 2: análise da dor pós-operatória de fêmeas caninas submetidas à OSH convencional ou videoassistida por dois portais, mediante protocolo de dipirona associada a escopolamina e meloxicam.
- Capítulo 3: Biomarcadores inflamatórios e indicadores de estresse oxidativo em cadelas submetidas à ovariosalpingohisterectomia convencional ou videoassistida por dois portais tratadas com dipirona associada à escopolamina e meloxicam.

2 CAPÍTULO 1

INFLAMAÇÃO E ESTRESSE OXIDATIVO NA VIDEOCIRURGIA

Fabíola Dalmolin, Cibele Lima Lhamas, Saulo Tadeu Lemos Pinto Filho, Marília Teresa de Oliveira, João Pedro Scusel Feranti, Andriele Poerschke, Maurício Veloso Brun.

Artigo publicado na Revista Científica de Medicina Veterinária – Pequenos Animais e Animais de Estimação – MEDVEP 2014:12 (40): 226-234.

Inflamação e estresse oxidativo na videocirurgia

Inflammation and oxidative stress in videosurgery

Fabíola Dalmolin - Médico Veterinário (MV), Mestre (MSc), doutoranda do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária (PPGMV) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

Cibele Lima Lhamas - MV, MSc, doutoranda do PPGMV-UFSM.

Saulo Tadeu Lemos Pinto Filho - MV, MSc, doutorando do PPGMV-UFSM.

Marília Teresa de Oliveira - MV, MSc, doutoranda do PPGMV-UFSM.

João Pedro Scussel Feranti – MV, mestrando do PPGMV-UFSM.

Andriele Poerschke: aluna de graduação em Medicina Veterinária, UFSM.

Maurício Veloso Brun - MV, MSc, Doutor (Dr), PPGMV-UFSM. Av. Roraima, 1000, Cidade Universitária, Camobi, Santa Maria, RS, 97105-900. Autor para correspondência: mauriciovelosobrun@hotmail.com

RESUMO: A videocirurgia tem sido amplamente empregada como ferramenta diagnóstica ou método cirúrgico na rotina de cães e gatos. Dentre as vantagens estão as pequenas incisões, a menor dor pós-operatória e a rápida recuperação dos pacientes e reduzida perda sanguínea. Mesmo as cirurgias eletivas, nas modalidades convencional ou videocirúrgica, promovem inflamação e estresse oxidativo que podem vir a causar complicações sistêmicas, aumentando a morbidade dos procedimentos. Objetiva-se revisar os processos que envolvem a inflamação e o estresse oxidativo em cirurgias videolaparoscópicas de cães, visando a melhor compreensão dos processos que envolvem a formação de catabólitos inflamatórios, espécies reativas e peroxidação lipídica.

PALAVRAS-CHAVE: cirurgia veterinária, espécies reativas, antioxidantes, resposta inflamatória.

INTRODUÇÃO

Ao longo dos últimos 20 anos a laparoscopia tornou-se uma das principais ferramentas operatórias. Inicialmente utilizada como procedimento de diagnóstico, nos dias atuais permite realizar quase qualquer cirurgia previamente executada por laparotomia (1). As abordagens laparoscópicas resultam em menor estresse que os procedimentos tradicionais abertos (2), sendo observadas em humanos vantagens que incluem menores incisões e dor pós-operatória; ingestão oral, retorno a movimentação e a alta hospitalar precoces; melhor efeito cosmético (3) e custos reduzidos (1).

O estresse apresenta infinidade de formas e é parte integrante de todas as doenças e traumas. A resposta ao estresse envolve dezenas de hormônios e citocinas, alterações na função celular e efeitos significativos sobre a neurotransmissão. Assim, cirurgia em qualquer local do organismo leva à resposta ao estresse cirúrgico e alterações na homeostase corporal (4).

Durante e após procedimentos cirúrgicos, o organismo responde ao estresse fisiológico com resposta inflamatória local, sistêmica, endócrina, metabólica, humoral e pela ativação imunológica de vários sistemas, sendo esta resposta coletivamente referida como resposta ao estresse cirúrgico (5).

Na resposta fisiológica ao trauma, as células inflamatórias são recrutadas para o local da lesão e secretam mediadores inflamatórios, assim como produzem o endotélio no sítio da lesão. Estão presentes hormônios (catecolaminas, hormônios adrenocorticotróficos - ACTH, cortisol e glucagon), citocinas (fator de necrose tumoral – TNF- α), interleucinas (IL-1 β , IL-6,

IL-8, IL-10, dentre outras) e outros produtos celulares tais como proteases, espécies reativas, eicosanoides, proteínas de fase aguda e fatores de crescimento (6).

Estudos experimentais e clínicos têm trazido evidências de que o trauma cirúrgico afeta marcadamente o sistema imunológico, incluindo tanto a resposta imune específica como a não específica. Enquanto se sugere que pequenas cirurgias estimulam os componentes individuais do sistema imune, se aceita que grandes cirurgias, embora associados à resposta de fase aguda local, provoquem a imunossupressão (7).

A inflamação é um dos mais importantes e úteis mecanismos de defesa do hospedeiro, já que sem esta a vida não seria viável. O processo envolve constituintes celulares, humorais e teciduais, após a ocorrência de lesão celular ou tecidual. Vasos afetados prontamente exsudam fluidos, proteínas plasmáticas e leucócitos, devido à ativação de mediadores bioquímicos. Leucócitos contribuem através de migração, liberação de enzimas e mediadores inflamatórios, além de atuarem na indução da fagocitose. Nas reações inflamatórias que causam resposta sistêmica, observa-se muitas vezes aumento nos leucócitos circulantes no sangue, assim como nos tecidos (8).

Tem-se dado importância ao estudo do estresse oxidativo, dentre outros motivos, devido ao reconhecido papel na patogênese de doenças cardiovasculares, neuropáticas, renais, hepáticas, inflamatórias, diabetes mellitus e neoplasmas (9). Há estresse oxidativo quando ocorre desequilíbrio entre a produção de espécies reativas e sua neutralização por antioxidantes. Estas moléculas, altamente instáveis, podem dentre outros, provocar danos ao DNA. Por sua vez, a modificação permanente do material genético resultante do dano oxidativo incidente representa o primeiro passo para a mutagênese, a carcinogênese e o envelhecimento (10).

Considerando que qualquer trauma, incluindo o cirúrgico, pode resultar em resposta inflamatória e estresse oxidativo (11), este trabalho tem como objetivo revisar os processos

que envolvem a inflamação e o estresse oxidativo em cirurgias videolaparoscópicas, visando o melhor entendimento das respostas orgânicas ao trauma cirúrgico.

REVISÃO DE LITERATURA

1. RESPOSTA INFLAMATÓRIA

A inflamação é resposta protetora cujo objetivo final é eliminar o agente indutor de danos (microrganismos, estímulos físicos, agentes químicos, etc.), evitar danos aos tecidos e/ou iniciar o processo de reparação. Na ausência de adequada inflamação celular e/ou tecidual, os danos causados às células, tecidos e órgãos nunca iriam resolver-se, podendo até evoluir para a morte do organismo (12). Por este motivo tal resposta foi considerada necessária e benéfica para cirurgia durante muito tempo (5).

As principais células e mediadores envolvidos no processo são as endoteliais, os leucócitos e os mediadores inflamatórios e pró-inflamatórios. Dentre os mediadores pró-inflamatórios encontram-se as citocinas, os radicais livres de oxigênio, os fatores de coagulação, etc. (4).

Os leucócitos que participam nas reações inflamatórias são neutrófilos, eosinófilos, basófilos, mastócitos, monócitos, macrófagos, linfócitos e células do plasma, todos habitantes normais do sangue circulante, exceto mastócitos. Cada tipo celular desempenha papel distinto, participando do processo inflamatório através de resposta a estímulos específicos. A produção de células como os neutrófilos, eosinófilos, basófilos e monócitos é principalmente regulada por citocinas (como a IL-3, o fator estimulante de colônias granulocítica monocítica), granulócitos e monócitos (8).

As plaquetas, os neutrófilos, os mastócitos e os monócitos ou os macrófagos e também células mesenquimais como o endotélio, o músculo liso e os fibroblastos, liberam mediadores

inflamatórios. Dentre os principais, encontram-se a histamina, a serotonina, as prostaglandinas, as enzimas lisossomais, os leucotrienos, os fatores de ativação de plaquetas, as espécies reativas como o oxigênio (EROs), o óxido nítrico, o hipoclorito; as citocinas, as cininas, o sistema de coagulação/fibrinólise e o sistema complemento (12).

Em cirurgia, a ocorrência da resposta ao estresse compreende grande número de mudanças desencadeadas a partir da ativação dos neurônios do foco da injúria, que por sua vez atuam no eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (13). A liberação de adrenocorticotropina pela hipófise anterior (que também secreta o hormônio do crescimento e as endorfinas) estimula a liberação de vasopressina pela hipófise posterior. A glândula adrenal por sua vez, responde com a liberação de cortisol e adrenalina, produzindo efeitos que incluem taquicardia, taquiarritmia, hipertensão, isquemia do miocárdio, insuficiência cardíaca congestiva, hipocalemia, hipomagnesemia, hiperglicemia e hipercoagulabilidade (14).

Autores citam que como a resposta clássica envolvendo as catecolaminas, cortisol e glicose em cirurgias abdominais não se alteram grandemente pela redução do trauma cirúrgico; sugere-se que neste tipo de cirurgia o estímulo da resposta ao estresse seja proveniente das fibras nervosas viscerais e peritoneais aferentes, adicionalmente ao promovido pelo estímulo da parede abdominal (13).

1.1 MARCADORES INFLAMATÓRIOS

Ao contrário de mediadores hormonais clássicos, os quais são produzidos por tecidos especializados e exercem a sua influência predominantemente por vias endócrinas, as citocinas são polipeptídeos ou glicoproteínas produzidas por diversos tipos de células no local da lesão e também por células imunitárias sistêmicas (15). Os mediadores IL-1, TNF- α , a IL-6, a IL-8 e a IL-11, desempenham papel na inflamação aguda, sendo que as citocinas envolvidas na inflamação crônica são divididas em dois grupos. As IL-4, IL-5, IL-6, IL-7 e

IL-13 mediam a resposta imune humoral e as IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-7, IL-9, IL-10, IL-12, interferon e TNF- α , os quais mediam respostas celulares. Citocinas como a IL-1 contribuem significativamente tanto na inflamação aguda como crônica (8). Dentre os mediadores pró-inflamatórios iniciais estão o TNF- α e a IL-1 β , os quais iniciam a liberação de outras citocinas, além de estimular a resposta de fase aguda hepática (6).

O TNF- α é um dos primeiros e mais potentes mediadores da resposta do hospedeiro. As fontes primárias deste mediador incluem os monócitos, os macrófagos e as células T, abundantes no peritônio e nos tecidos esplâncnicos, além das células de Kupffer (15). A administração venosa de doses elevadas de TNF- α em modelos animais provocou hipotensão, taquicardia, taquipnéia, acidose láctica, hemoconcentração, hipercalemia e hiperglicemia, seguida por hipoglicemia. Tem-se conhecimento de que esta citocina também aumenta a adesão celular leucócitos-endotélio, estimula a secreção de quimiocinas e induz a ativação de neutrófilos (6). Assim, acredita-se que lesões cirúrgicas ou traumáticas das vísceras abdominais tenham profunda influência na geração destes mediadores inflamatórios e de respostas homeostáticas, tais como a produção de proteínas de fase aguda (15).

A IL-1 é liberada principalmente por macrófagos ativados e células endoteliais, sendo conhecidas duas espécies de IL-1: a α e a β . A primeira é predominantemente associada a membranas celulares e exerce sua influência por meio de contatos celulares. Já a IL-1 β é mais facilmente detectável na circulação, sendo capaz de induzir alterações fisiológicas e metabólicas semelhantes às induzidas pelo TNF- α . Tem-se conhecimento de que o TNF- α e IL-1 β são sinérgicos no processo inflamatório e indutores potentes da IL-6 (15).

A IL-6 é secretada a partir de todas as células e tecidos, incluindo o intestino (15). Além da sua ação pró-inflamatória, ela também tem função imunorreguladora, implicada na ativação de células T e B, e estimulação de crescimento das células-tronco hematopoiéticas. Tal interleucina é provavelmente o mais importante fator de crescimento *in vivo*, induzindo a

fase de resposta aguda. Adicionalmente, pode ser estimulada pelo lipopolissacarídeo, fator de crescimento derivado das plaquetas, interferon- γ , fator estimulador de colônia granulocítica monocítica, prostaglandina E e bradicinina (6).

Em cirurgia, a IL-6 pode estimular a inflamação induzida por estresse, por meio da modulação dos polimorfonucleares (7). Além disso, a elevação desta interleucina no soro em inflamação ou infecção parece ser proporcional ao grau de lesão dos tecidos durante uma operação, mais do que a duração do procedimento cirúrgico (15). Como ela reflete a gravidade da lesão, dentre todas as citocinas, é considerada de prognóstico mais confiável (6). Além disso, é importante mediador da resposta de fase aguda hepática e durante a convalescença. Após a lesão, a IL-6 em circulação é detectável por 60 minutos (pico de quatro a seis horas), podendo persistir até 10 dias (15).

As IL-4 e IL-10 são citocinas anti-inflamatórias e exercem efeitos semelhantes. Em células-alvo *in vitro* e *in vivo*, inibem a síntese do TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 e fatores estimulantes de colônias. A IL-10 é sintetizada por linfócitos e monócitos, e com frequência é elevada no soro de pacientes com trauma. São correlacionadas com a presença de choque, podendo seu papel anti-inflamatório se limitar a lesão mediada pelo TNF- α na sepse (6). Estudos com animais demonstraram que a indução de IL-10 de transcrição atenuou a resposta inflamatória sistêmica e reduziu a taxa de mortalidade durante a peritonite séptica. No entanto, a administração excessiva de IL-10 em modelos animais semelhantes foi associada ao aumento da carga bacteriana e mortalidade (15).

A resposta de fase aguda é iniciada no local do trauma cirúrgico por macrófagos e monócitos, que liberam citocinas pró-inflamatórias, em particular, o TNF α e a IL-1 β (7), que direcionam a resposta inflamatória aos locais de infecção e ferimento. No entanto, a produção exagerada de citocinas pró-inflamatórias junto a lesão pode se manifestar sistemicamente por instabilidade hemodinâmica (observada no choque séptico) ou como perturbações metabólicas

que resultam em perda de massa muscular. Após grandes lesões, respostas persistentemente exageradas de citocinas pró-inflamatórias podem contribuir para lesão de órgãos à distância. As citocinas anti-inflamatórias podem atenuar algumas dessas respostas exageradas; contudo seu excesso torna o paciente imunocomprometido (15).

Além destes marcadores, estudos demonstraram que a atividade das enzimas butirilcolinesterase e acetilcolinesterase no plasma e em tecidos de pacientes com diferentes doenças crônicas estão elevadas. Isso sugere que a verificação da atividade destas enzimas em diferentes condições clínicas pode servir como marcador de inflamação sistêmica de baixo grau (12).

1.2 PROTEÍNAS DE FASE AGUDA

Em resposta a uma lesão, o fígado sintetiza grupo de proteínas de fase aguda a fim de manter a homeostase. Estas proteínas funcionam como opsoninas (proteína C reativa), inibidoras da protease (α 1-inibidor de proteinase, α 1-antitripsina, α 1-antiquimiotripsina), agentes hemostáticos (fibrinogênio) e como transportadoras (glicoproteína ácida e transferrina) (6).

De maneira geral, a síntese de proteínas tipo I de fase aguda é induzida por citocinas como o TNF- α e IL-1 β e incluem soro amilóide, a proteína C reativa e a fração C3 do complemento. As proteínas de fase aguda tipo II são induzidas pela IL-6 e incluem o fibrinogênio, a haptoglobina, e a α 1-antitripsina. A albumina é proteína de fase aguda negativa, pois sua síntese é reduzida na inflamação (6).

A proteína C reativa é uma das mais importantes proteínas de fase aguda induzida por trauma cirúrgico, e sua mensuração no plasma pode ser medida eficaz do trauma cirúrgico, fracamente correlacionada com a duração da cirurgia (2).

A indução de resposta de fase aguda promove aumento da síntese de glicocorticoides, que regula negativamente a resposta pró-inflamatória através da inibição da expressão de TNF- α e IL-1 β . Já os grandes traumas cirúrgicos induzem inicialmente resposta hiperinflamatória, caracterizada por aumento do TNF- α , IL-1, IL-6, liberação de citocinas, ativação dos neutrófilos e adesão microvascular, bem como aumento descontrolado de polimorfonucleares e explosão oxidativa de macrófagos. A maciça e contínua liberação de IL-6 induz resposta de fase aguda, mas regula mediadores anti-inflamatórios importantes, podendo resultar em imunossupressão induzida pelo trauma cirúrgico (7).

Na videocirurgia, de maneira geral, verifica-se menor injúria tecidual que nos procedimentos convencionais (13). A redução de trauma cirúrgico pela abordagem laparoscópica (Figura 1) reduz o índice das citocinas pró-inflamatórias TNF- α , IL-1 β e IL-6 no pós-operatório. Assim, o aumento das concentrações dos marcadores bioquímicos da inflamação, como a proteína C reativa, não é tão pronunciado (7).

Quando fêmeas caninas foram submetidas a ovariectomia aberta, laparoscópica e por NOTES transgástrica com uso de endoscópio flexível, verificou-se que embora o procedimento por NOTES tenha evidenciado menores escores de dor, esse grupo demonstrou maior dano tecidual, quando comparado com os animais submetidos à técnica aberta, provavelmente devido ao pneumoperitônio com pressões intrabdominais mais altas e ao maior tempo cirúrgico associado à técnica proposta (2).

Na comparação da inflamação promovida pelas técnicas de ovário-histerectomia convencional e duas modalidades de cirurgia endoscópica transluminal por orifícios naturais (NOTES) em fêmeas caninas através da mensuração plasmática de AChE e BChE, observou-se aumento na atividade da AChE em ambos os grupos NOTES. Tal alteração pode ser associada à produção de pneumoperitônio transoperatório, que entre outros fatores, estimula alterações inflamatórias (12).



Figura 1 – Ovário-histerectomia videoassistida com dois portais em cadela (à esquerda), e por acesso convencional (à direita). Observar feridas cirúrgicas reduzidas na técnica videoassistida com dois portais quando comparada a técnica convencional.

2. ESTRESSE OXIDATIVO

Os radicais livres são moléculas altamente reativas que possuem elétrons não pareados em sua estrutura (11; 9) e são continuamente produzidos no organismo pelas mitocôndrias, leucócitos e a xantina oxidase (11). Estas moléculas podem ser derivadas do oxigênio (ânion superóxido, hidroxil, peroxil, hidroperoxil, peróxido de hidrogênio e o ácido hipocloroso), do nitrogênio (óxido nítrico, dióxido de nitrogênio, peroxinitrito, óxido nitroso e peroxinitrato) (16) ou do enxofre (dissulfureto, monóxido e dióxido de dissulfureto, ácidos sulfênico e sulfínico) (9). Em geral, as espécies reativas têm meia-vida muito curtas e reagem de forma rápida e inespecífica com diversos alvos e compostos celulares (17), sendo as espécies derivadas do oxigênio consideradas as mais importantes do ponto de vista biológico (10).

Dentre os fatores externos que ajudam a promover a produção estão o tabagismo, os poluentes ambientais, as drogas, os pesticidas, os solventes industriais e o ozônio. Internamente, são produzidos como parte normal do metabolismo do oxigênio dentro da

mitocôndria, através de xantina oxidase, no metabolismo dos peroxissomas, na fagocitose, nos processos inflamatórios (cascata do ácido aracdônico), na isquemia e no exercício físico (9).

Na respiração celular, a maior parte do oxigênio consumido é reduzido à água, possibilitando a síntese do ATP pela fosforilação oxidativa. Entretanto, aproximadamente 5% deste gás sofre redução incompleta, produzindo o radical superóxido, o qual após uma série de reações produz compostos como peróxido de hidrogênio e o radical hidroxila, o mais reativo e danoso dos radicais livres formados (18).

Os efeitos benéficos dos radicais livres ocorrem em concentrações baixas ou moderadas e envolvem papéis fisiológicos nas respostas celulares, como defesa contra agentes infecciosos, indução de resposta mitogênica (10), regulação da atividade de várias quinases e fatores de transcrição, além do mecanismo da morte celular. Várias citocinas, fatores de crescimento, hormônios e neurotransmissores usam as espécies reativas do oxigênio como segundo mensageiro (19).

O aumento incontrolado de espécies reativas pode causar dano oxidativo e mudanças funcionais nas proteínas, nos lipídios, nos ácidos nucléicos e em outras biomoléculas (20), lesando estruturas moleculares e conduzindo a célula à degeneração, envelhecimento e morte. Assim, quando há desequilíbrio entre a produção de radicais livres e antioxidantes em direção ao estado oxidativo, desenvolve-se estresse oxidativo (3,11), um dos responsáveis pela síndrome da resposta inflamatória sistêmica capaz de causar danos a órgãos distantes (3).

Os principais alvos são as estruturas celulares, os ácidos nucléicos, as proteínas e os lipídeos (10). As proteínas podem ser modificadas por oxidação de aminoácido específico, oxidação de peptídeos mediada por espécies reativas e pela formação de ligações cruzadas de proteína devido à reação com produtos de peroxidação lipídica. O dano causado aos ácidos nucléicos é químico e estrutural. No caso dos açúcares, há formação de radicais que numa reação em cadeia resultante pode levar a formação de moléculas mutagênicas (9). O principal

produto resultante da peroxidação lipídica é o malondialdeído (10), referida substância reativa do ácido tiobarbitúrico (8), considerado molécula mutagênica para células bacterianas e de mamíferos, e cancerígena para células de ratos (10).

2.1 BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO E PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA

O estresse oxidativo pode ser quantificado por meio de diferentes biomarcadores, pela medição direta dos radicais livres, dos produtos finais de danos dos radicais livres, ou dos níveis de antioxidantes específicos e totais. Diferentes biomarcadores têm sido usados em vários ajustes clínicos, mas não há um único que possa representar o estresse oxidativo (11). As principais fontes de estudo do estresse sistêmico compreendem as enzimas antioxidantes do plasma e das hemácias (20).

A remoção das espécies reativas do organismo ocorre a partir de antioxidantes, classificados em enzimáticos e não enzimáticos. Dentre os antioxidantes enzimáticos encontram-se as enzimas superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT), a glutathione peroxidase (GPx), a glutathione redutase e a glicose-6-fosfatodesidrogenase. Dentre o conjunto não enzimático está uma gama maior de antioxidantes: flavonoides, cofatores, minerais (Zn e Se), compostos organosulfurados, vitaminas e derivados (A, K, E, C), carotenóides, compostos nitrogenados não-proteicos e ácidos fenólicos (9).

A SOD e a CAT atuam impedindo o início das reações em cadeia dos radicais livres. A SOD catalisa a reação de superóxido em peróxido de hidrogênio, uma das principais reações do sistema de proteção antioxidante enzimático contra o radical superóxido. Esta enzima pode se localizar no citosol celular ou na mitocôndria, distribuição que fornece proteção adequada. Já a CAT, que protege as células dos efeitos dos superóxidos, localiza-se nos peroxissomos, nos lisossomos e na mitocôndria, sendo considerada eficaz na proteção contra os danos dos radicais de oxigênio (21).

A superóxido dismutase, a glutathiona peroxidase, a catalase e outras peroxidases são extensivamente estudadas como enzimas antioxidantes de defesa. São caracterizadas por elevada especificidade celular, devido à localização específica em órgãos e subcelular, que muitas vezes se sobrepõem de forma complementar, e por um metal específico envolvido na catalização, incluindo o cobre, o zinco, o manganês, o ferro e o selênio. Estes sistemas antioxidantes estão amplamente distribuídos na natureza, destacando a sua importância na prevenção dos efeitos nocivos dos metabólitos reativos do oxigênio em sistemas biológicos, sendo sua distribuição crucial na toxicidade nos órgãos-alvo (17).

Muitos dos alvos biológicos do estresse oxidativo são os lipídios, a classe mais complicada de biomoléculas quanto a esse aspecto, pois origina produtos secundários que agravam danos oxidativos. Longevidade e alta reatividade permitem que estas atuem dentro e fora das células, interagindo com ácidos nucleicos e proteínas, muitas vezes, irreversivelmente, danificando assim delicados mecanismos envolvidos na funcionalidade das células. O malondialdeído é o principal e mais estudado produto resultante da peroxidação de ácidos graxos poli-insaturados (22). O efeito deste radical nas células é a disfunção progressiva da membrana celular, a perda da permeabilidade da membrana seletiva, danos ao DNA e degradação de proteínas estruturais e a atividade da enzima ligada à membrana (8).

O malondialdeído é utilizado como indicador da ação dos radicais livres, sendo sua quantificação parâmetro importante para a avaliação do estresse oxidativo (24) *in vivo* e *in vitro* (22). Como efeito de processos de radicais livres e peroxidação lipídica, os níveis de SOD no sangue total são marcadamente reduzidos em animais submetidos a hipóxia e reperfusão, com valores significativamente elevados de malondialdeído após a reperfusão. Entretanto, os investigadores sugerem que a mensuração de malondialdeído (TBars) por si só, não é um teste adequado para detectar a presença ou magnitude da peroxidação lipídica (8).

2.2 ESTRESSE OXIDATIVO EM VIDEOCIRURGIA

Acredita-se que o estresse oxidativo é parte integrante da resposta ao estresse cirúrgico (5). Autores afirmaram que o trauma e a injúria cirúrgica estão associados com o aumento na produção de oxidantes e diminuição dos mecanismos antioxidantes. Dentre os fatores mais comuns que levam ao desequilíbrio do status oxidativo estão a sepse, a lesão cerebral e o evento isquemia-reperfusão, considerado o mais lesivo (3). A duração da cirurgia e da isquemia e perfusão são determinantes no grau de estresse oxidativo. Na cirurgia vascular o estresse oxidativo é amplificado, e por si só pode ser associado a complicações como lesões do miocárdio, sepse, edema pulmonar, insuficiência renal e hepática e aumento da mortalidade (5).

Paralelamente, a cascata de resposta ao estresse pode levar a diminuição no fluxo sanguíneo mesentérico, tornando o intestino suscetível às lesões de isquemia e perfusão, assim como pela ativação de leucócitos e disfunção mitocondrial. Conseqüentemente, são geradas espécies reativas que contribuem para aumentar os danos à barreira mucosa intestinal, favorecendo a translocação bacteriana (23).

Acredita-se que por provocar menor dano tecidual e inflamação sistêmica, a cirurgia laparoscópica em comparação com a cirurgia convencional aberta proporciona-se menor formação de EROs e estresse oxidativo (25), além de estar associada com preservação da função imunológica (11). Além disso, existe a possibilidade de que procedimentos abertos estejam envolvidos com maior produção de espécies reativas em virtude das grandes incisões, manipulação intestinal e ativação de células inflamatórias (26). No entanto, o pneumoperitônio, instituído nos procedimentos laparoscópicos, ocasiona redução na perfusão intestinal e na microcirculação hepática. Na seqüência, a desinsuflação reduz a pressão intra-abdominal e aumenta a perfusão esplâncica, representando modelo de isquemia-

reperfusão, fato conhecido como a principal causa de produção de espécies reativas durante o transoperatório (3,1).

Estudos têm focado principalmente nas mudanças do fluxo de sangue intra-abdominal para os órgãos ocos e sólidos e a maioria mostra que o aporte sanguíneo para órgãos abdominais é reduzido na ordem de 10-80% durante a laparoscopia, sendo normalizado após desinsuflação da cavidade abdominal (1).

Embora tenha sido demonstrado que a hipoperfusão de órgãos sólidos abdominais resultantes do pneumoperitônio provoque alterações no sistema cardiovascular, assim como nos parâmetros hemodinâmicos, no sistema pulmonar, na função renal, no íleo terminal, no fígado, no baço e na função testicular, um estudo observou que há mínima resposta metabólica, imunológica e oxidativa ao estresse em pressões abdominais de 8-12mmHg. Entretanto, não se tem conhecimento da produção dessas espécies reativas no pós-operatório, tampouco sua comparação com os procedimentos abertos e a real importância clínica do estresse oxidativo nos procedimentos cirúrgicos (11).

Comparando o estresse oxidativo promovido pelas técnicas de ovário-histerectomia convencional e duas modalidades de NOTES em fêmeas caninas, verificou-se que o procedimento de NOTES total resulta em danos oxidativos, como todo ato cirúrgico, mas que este, aparentemente, parece ser de menor intensidade do que os grupos operados por NOTES híbrida e por cirurgia convencional. O fato foi associado ao mínimo trauma tecidual e ao reduzido tempo operatório (12).

A fim de prevenir o dano oxidativo, o organismo dispõe de defesas enzimáticas como a SOD, a CAT e a GPx, consideradas a primeira linha de defesa do organismo contra as espécies reativas. No caso de produção excessiva dessas espécies reativas, como ocorre nas cirurgias, as defesas antioxidantes podem ser insuficientes em remover as espécies reativas, iniciando assim o processo de peroxidação lipídica (12). No intuito de diminuir os efeitos

lesivos das espécies reativas, a administração de drogas com ação antioxidante, ou a suplementação de antioxidantes, tem demonstrado redução da morbidade e mortalidade em várias populações de pacientes. A melatonina, secretada pela glândula pineal, é considerada mais eficaz do que alguns antioxidantes "clássicos" (como por exemplo, vitaminas E e C) na proteção contra o estresse oxidativo, podendo ser suplementada. Foi observado que sua utilização reduziu o dano oxidativo relacionado à cirurgia, diminuindo a morbidade e mortalidade (5).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A inflamação e a formação de espécies reativas são duas constantes em cirurgia presentes em maior ou menor grau, na dependência da técnica cirúrgica escolhida e do cirurgião, que pode atenuar ou contribuir para que estes fatores levem ao desequilíbrio da homeostase. Como existem ainda contradições entre os autores com relação à resposta inflamatória e estresse oxidativo na videocirurgia, novos estudos comparando as técnicas convencionais e videocirúrgicas são necessários.

ABSTRACT: Currently, laparoscopy is widely used as a diagnostic tool and surgical method in the surgical routine of dogs and cats. Among the advantages are the small incisions, less postoperative pain and faster recovery. Even elective surgeries, in conventional or videosurgical modalities, promote inflammation and oxidative stress that may cause systemic complications, increasing the morbidity of the procedure. The objective of this paper is to review the processes involving inflammation and oxidative stress in dogs underwent to laparoscopic surgeries, in order to better understand the processes that involve the formation of inflammatory catabolites, free radicals and lipid peroxidation.

KEYWORDS: veterinary surgery, free radicals, antioxidants, inflammatory reaction.

REFERÊNCIAS

1. Guven S, Muci E, Unsal MA, Yulug E, Alver A, Duman MK et al. The effects of carbon dioxide pneumoperitoneum on ovarian blood flow, oxidative stress markers, and morphology during laparoscopy: a rabbit model. *Fertility and Sterility* 2010; 93(4):1327-1332. Disponível em: URL: [http://www.fertstert.org/article/S0015-0282\(08\)04428-2/abstract](http://www.fertstert.org/article/S0015-0282(08)04428-2/abstract) [2014 jan. 5].
2. Freeman LJ, Rahmani EY, Al-Haddad M, Sherman S, Chiorean MV, Selzer DJ et al. Comparison of pain and postoperative stress in dogs undergoing natural orifice transluminal endoscopic surgery, laparoscopic, and open oophorectomy. *Gastrointestinal Endoscopy* 2010; 72(2):373-380. Disponível em: URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0016510710001392> [2014 jan. 15].
3. Baysal Z, Togrula T, Aksoyb N, Cengiza M, Çelikb H, Bolekenc ME et al. Evaluation of total oxidative and antioxidative status in pediatric patients undergoing laparoscopic surgery. *Journal of Pediatric Surgery* 2009; 44:1367-1370. Disponível em: URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022346808010427> [2014 fev. 5].
4. Thomas S, Balasubramanian KA. Role of intestine in postsurgical complications: involvement of free radicals. *Free Radical Biology & Medicine* 2004; 36(6):745-756. Disponível em: URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0891584903007676> [2013 may. 9].
5. Küçükakin B, Gögenur I, Reiter RJ, Rosenberg J. Oxidative Stress in Relation to Surgery: Is There a Role for the Antioxidant Melatonin? *Journal of Surgical Research* 2009. 152: 338–347.
6. Kim PK, Deutschman CS. Inflammatory responses and mediators. *Surgical clinics of North America* 2000; 80(3):885-894. Disponível em: URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S003961090570102X> [2013 may. 9].

7. Menger MD, Vollmar B. Surgical trauma: hyperinflammation versus immunosuppression? *Langenbecks Arch Surg* 2004; 389:475–484. Disponível em: URL: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00423-004-0472-0#page-1> [2014 fev. 10].
8. Vajdovich P. Free radicals and antioxidants in inflammatory processes and ischemia-reperfusion injury. *Veterinary Clinics Small Animal Practice* 2008; 38:31–123.
9. Carocho M, Ferreira ICFR. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology* 2013; 51:15-25.
10. Valko M, Leibfritz D, Moncola J, Cronin MTD, Mazura M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2007; 39:44-84.
11. Arsalani-Zadeh R, Ullah S, Khan S, MacFie J. Oxidative stress in laparoscopic versus open abdominal surgery: a systematic review. *Journal of Surgical Research* 2011; 169(1):59-68. Disponível em: URL: [http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022-4804\(11\)00064-3](http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022-4804(11)00064-3) [2014 fev. 5].
12. Basso PC, Raiser AG, Brun MV, Mazzanti CM, Costa MM, Wolkmer P et al. Biomarcadores inflamatórios e indicadores de estresse oxidativo em cadelas submetidas à ovariossalpingohisterectomia convencional, por NOTES híbrida e NOTES total. *Ciência Rural* 2014; 44(5): 884-890.
13. Desborough JP. The stress response to trauma and surgery. *Br J Anaesth*, 2000; 85(1): 109-117. Disponível em: URL: <http://bj.oxfordjournals.org/content/85/1/109.long> [2014 jan. 5].
14. Hackett T, Voss JL. The Systemic Inflammatory Response Syndrome. In: Bojrab MJ e Monnet E, editor. *Mechanisms of Disease in Small Animal Surgery*, 3rd ed. Teton

- NewMedia, Jackson, WY; 2011. [cited 2014 May 9]. Available from: URL: <http://www.ivis.org/advances/bojrab/toc.asp> [2014 jan. 9].
15. Lin E, Calvano SE, Lowry SF. Inflammatory cytokines and cell response in surgery. *Surgery* 2000; 127(2):117-126.
16. Edeas M. Strategies to target mitochondria and oxidative stress by antioxidants: key points and perspectives. *Pharmaceutical Research* 2011; 28:2771-2779.
17. Sies H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. *The American Journal of Medicine* 1991; 91(3C): 31-38. Disponível em: URL: [http://www.amjmed.com/article/0002-9343\(91\)90281-2/pdf](http://www.amjmed.com/article/0002-9343(91)90281-2/pdf) [2014 jan. 9].
18. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 4.ed. New York: Clarendon Press; 2007.
19. Imai H, Nakagawa Y. Biological significance of phospholipids hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx, GPx4) in mammalian cells. *Free Radical Biology & Medicine* 2003; 34(2):145-169.
20. Stavínohová R, Lorenzová J, Papežíková I, Borkovcová I, Pfeifr J, Lojek A et al. Markers of oxidative and antioxidative activity in female dogs with mammary gland tumour with and without additional vitamin E supplementation. *ACTA VET. BRNO* 2012; 81: 275–280.
21. Turk HM, Sevinc A, Camci C, Cigli A, Buyukberber S, Savli H et al. Plasma lipid peroxidation products and antioxidant enzyme activities in patients with type 2 diabetes mellitus. *Acta Diabetol* 2002; 39:117-122.
22. Del Rio D, Stewart AJ, Pellegrini N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases* 2005; 15:316-328.

23. Gretz M, Regel G, Bastian L, [Weimann A](#), [Neuhoff K](#), [Stalp M](#) et al. The intestine as the central organ in the development of multiple organ failure after severe trauma. Pathophysiology and therapeutic approaches. *Zentralbl. Chir*, 1998. 123(3):205-217.
24. Silva ACRA, Almeida BFM, Soeiro CS, Ferreira WL, Lima VMF, Ciarlini PC. Estresse oxidativo e aumento da apoptose em neutrófilos de cães com azotemia pré-renal. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 2013; 65(1):163-170. Disponível em: URL: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-09352013000100025&script=sci_arttext [2014 jan. 9].
25. Whelan RL, Franklin M, Holubar SDJ, [Fowler R](#), Munger C et al. Postoperative cell mediated immune response is better preserved after laparoscopic versus open colorectal resection in humans. [Surgical Endoscopy And Other Interventional Techniques](#) 2003; 17(6): 972-978.
26. Souza AMB, Rogers MS, Wang CC, Yuen PM, Ng PS. Comparison of peritoneal oxidative stress during laparoscopy and laparotomy. *The Journal of the American Association of gynecologic Laparoscopist* 2003; 10(1):65-74.

3 CAPÍTULO 2

**CONVENTIONAL OR TWO-PORT LAPAROSCOPIC-ASSISTED
OVARIOHYSTERECTOMY IN BITCHES: PAIN ASSESSMENT USING
ANTI-INFLAMMATORY DRUGS**

Fabíola Dalmolin, Marília Teresa Oliveira, Saulo Tadeu Lemos Pinto Filho, Virgínia Heinze Pohl, Marcos André Braz Vaz, Bianca Bertolotti, Hellen Fialho Hartmann, Bianca Santana Cecco, Marco Augusto da Silva Machado, Maurício Veloso Brun.

(Artigo enviado para publicação na Revista Ciência Rural).

Conventional or two-port laparoscopic-assisted ovariohysterectomy in bitches: pain assessment using anti-inflammatory drugs

Ovário-histerectomia convencional ou videoassistida com dois portais em cadelas: avaliação do estímulo álgico com uso de anti-inflamatórios

Fabíola Dalmolin¹ Marília Teresa Oliveira² Saulo Tadeu Lemos Pinto Filho² Virgínia Heinze Pohl² Marcos André Braz Vaz³ Bianca Bertolotti² Hellen Fialho Hartmann² Bianca Santana Cecco⁴ Marco Augusto da Silva Machado⁵ Maurício Veloso Brun^{6*}

ABSTRACT

Laparoscopic-assisted surgery is a surgical tool with advantages that include smaller incisions and postoperative pain. It was evaluated the painful process of 14 dogs operated by video-assisted technique by two ports (GV) or conventional (GC), medicated with dipyrone, scopolamine and meloxicam, during the first 48 hours postoperatively, using the scales Visual Analogue, Melbourne and Short Form of the Glasgow Composite Pain Scale until 72 hours after surgery. We observed differences between groups, with superiority of the laparoscopic-assisted technique by two portals.

Key words: Endosurgery, pain, anti-inflammatory, laparoscopy, celiotomy.

RESUMO

A cirurgia videoassistida é ferramenta operatória com vantagens que incluem menores incisões e dor pós-operatória. Avaliou-se o processo álgico de 14 cadelas submetidas a

¹ Departamento de Medicina Veterinária, Fundação Universidade Regional de Blumenau (FURB).

² PPGMV, UFSM.

³ Programa de Pós-graduação em Zootecnia, UFSM.

⁴ Programa de Residência do Curso de Medicina Veterinária da UFSM.

⁵ Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo (FAMV/UPF).

⁶ Departamento de Clínica de Pequenos Animais, UFSM. Bolsista CNPq/Brasil. Av. Roraima, 1000, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil. *Autor para correspondência.

E-mail: mauriciovelosobrun@hotmail.com.

ovário-histerectomia videoassistida com dois portais (GV) ou convencional (GC), medicadas com dipirona, escopolamina e meloxicam por meio das escalas Visual Analógica, da Universidade de Melbourne e da forma simplificada da Escala Composta de dor de Glasgow até 72h de pós-operatório. Foram verificadas diferenças entre os grupos, com superioridade da técnica videoassistida por dois portais.

Palavras-chave: videocirurgia, dor, anti-inflamatório, laparoscopia, celiotomia.

INTRODUCTION

Ovariohysterectomy (OVH) is the most common surgical procedure performed in the small animal practice. Its benefits and complications have been widely reported (DAVIDSON et al., 2004; DEVITT et al., 2005). The traditional OVH technique involves the resection of the ovaries and uterus following a median celiotomy (MACPHAIL, 2013). Minimally invasive OVH has been reported in dogs since the early 90s (BRUN et al., 2011), which presents advantages such as less postoperative pain, lower risk of dehiscence and hemorrhage, as well as decreased convalescence period and hospital stay (DAVIDSON et al., 2004).

Pain is a sensitive and emotional unpleasant experience, which is associated to real or potential tissue damage (IMAGAWA et al., 2011). Besides ethical concerns on pain relief, the use of analgesics affects emotional stress and avoids the release of deleterious endogenous molecules, reducing morbidity and mortality (SALIBA et al., 2011).

The main active principles used for the management of acute pain are the opioids and non-opioid drugs, including non-steroidal anti-inflammatory (NSAIDs) and antipyretics drugs (IMAGAWA et al., 2011). The sodium dipyrone acts on pain by means of the inhibition of the synthesis of prostaglandins on the peripheral and central nervous system (CHANDRASEKHARAN, 2002). The N-butylscopolamine bromide is a muscarinic

cholinergic antagonist, traditionally indicated for the treatment of colic, which acts over the smooth muscles of the intra-abdominal and pelvic organs, predominantly on the intramural parasympathetic no ganglions of the smooth muscles (GANEM et al., 2005).

Meloxicam is a predominantly COX-2 selective NSAID, which inhibits the development of inflammatory cascade by blocking the metabolism of the arachidonic acid. It is known minimally affect organic functions of the prostaglandins and thromboxane, such as regulation of blood flow to the gastrointestinal tract and kidneys, protection of the gastric mucosa, control of platelet aggregation and production of cloths and others (CAULKETT et al., 2003).

Although several studies have compared pain in dogs undergone conventional and endosurgical OVH, literature regarding the use of analgesic and anti-inflammatory drugs as a sole pain management strategy is sparse. Thus, the purpose of this study was to compare postoperative pain of conventional and two-port laparoscopic-assisted OVH in bitches using the dipyrone-scopolamine-meloxicam association for pain management.

MATERIAL AND METHODS

The current study was previously approved by the Committee on Ethics on Animal Use for Education and Research Purposes (CEUA) of the university where the research was carried out (protocol no. 081/2012(4)). Inclusion criteria was based on clinical and laboratorial assessment (complete blood count and serum creatinine, albumin, alkaline phosphatase and alanine aminotransferase). Fourteen adult mongrel bitches, aging up to four years old, weighting 15.83 ± 3.77 kg matched the inclusion criteria and entered the study. The animals were admitted 48 hours previously to surgery and received $1 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ nitenpyram orally on admission. The bitches remained housed on acclimatized environment, with water

and commercial dog food *ad libitum*, where they were able to have contact with personal and animals involved on the study to get used to handling.

The animals were fasted for 12 hours for food and 8 hours for water. On the early preoperative period, the patients were assessed clinically and the physiologic parameters, heart rate (bpm), respiratory rate (mpm) and systolic blood pressure (mmHg)⁷ were measured. Following random distribution in two groups according to surgical technique, the animals were given acepromazine (0.05mg.kg⁻¹) and anesthesia was induced using propofol (4 mg.kg⁻¹). After tracheal intubation, general anesthesia was maintained using isoflurane vaporized in 100% oxygen, which was adjusted in order to keep the patients on plane III according to Guedel's Stages of Anesthesia (MASSONI, 2011). A fentanyl citrate constant rate infusion (15µg.kg⁻¹.h⁻¹) was established using peristaltic infusion pump⁸ 15 minutes prior to surgery. Prophylactic administration of sodium ampicillin (20mg.kg⁻¹, i.v.) and fluid therapy using ringer's lactate solution (10ml.kg⁻¹.h⁻¹, i.v.) were performed. Fluid therapy was withdrawn on extubation.

All animals were operated on by the same surgeon, who was proficient on both surgical techniques. A standard retro-umbilical celiotomy, which encompassed one-third of the distance between the umbilicus and the pubis, was carried out for the conventional OVH technique on group GC. On group GV, surgical access was achieved using two ports of 11mm, which were inserted through the umbilicus and on the pre-pubic area, as described previously (ATAÍDE et al., 2010). On group GC, prophylactic hemostasis of the ovarian pedicles and uterine body and vessels were performed using double ligatures with 2-0 USP polyglactin 910 thread, according to the three-clap technique and rupture of the suspensory ligament (MACPHAIL, 2013). On group GV, bipolar cauterization and transection of the

⁷ PetMAP®: Ramsey Medical Inc.

⁸ MedPump MP20, CELM. São Caetano do Sul, SP.

ovarian pedicles and suspensory ligament was performed on the no GV⁹, and double ligatures were applied on the uterine body and vessels using the same thread as used for the GC group. At the end of the procedure, the patients were medicated using an association of dipyrrone-scopolamine (25mg.kg⁻¹ and 0.2mg.kg⁻¹, respectively) and meloxicam (0.2mg.kg⁻¹), intravenously; subsequent administration of the dipyrrone-scopolamine association were given on 6-hour intervals and meloxicam was administered on 24-hour intervals, both subcutaneously, providing a 48-hour analgesia regimen.

Pain assessment was carried out by three proficient evaluators, who were blinded to surgical technique and analgesic protocol used. The abdomen was widely clipped in all animals independently of the group they belonged to. Additionally, the ventral abdomen was covered by sterile surgical sponges, bandages and elastic sheath, so that the evaluators could not perceive which surgical technique was used. Previously to pain assessments, a technician checked if the dressings were in place, which were changed if required.

Postoperative pain was assessed using the visual analogue scale (VAS), the University of Melbourne Pain Scale (UMPS) and the short-form of the Glasgow Composite Measure Pain Scale (CMPS-SF). Each evaluator performed their assessment individually, without influence of the others. The final score for all pain assessment techniques was the arithmetic mean of the scores of all evaluators. The evaluation sessions began by the opening of the cage, with observation of the exit of the patient and subsequently gentle palpation of the surgical wound area. Rescue analgesia would be administered if pain scores reached 50mm by the VAS, 7 points by the UMPS or 12 points by the CMPS-SF technique, given by two or more evaluators. The rescue analgesic agent chosen for this study was morphine sulphate (0,5 mg.kg⁻¹, i.m.). Pain assessment began 120 minutes following extubation and were conducted

⁹ Lina Tripol Powerblade®, Lina Medical Inc., Dinamarca. Distribuído por WEM Equipamentos Eletrônicos Ltda., Ribeirão Preto, SP, Brasil.

on 2-hour intervals for the first 8 hours, and at 12, 18, 24, 36, 48 and 72 hours postoperatively.

All data were previously submitted to the Shapiro-Wilk normality test. Pain assessment, time on first spontaneous food intake and defecation were compared using the non-parametric Kruskal-Wallis (within group, among moments) and Mann-Whitney (between groups, in each moment) tests. Means were compared using the Scott-Knott test. The Spearman test was used to investigate correlation among pain scores, and agreement among evaluators was measured using the Kappa coefficient. The level of significance was 5% for all tests. All tests were performed using the software R (2014).

RESULTS AND DISCUSSION

The admission of the patients 48 hours prior to surgery provided acclimation to the environment and people involved on the assessments, minimizing the effect of stress and manipulation on the assessments and procedures performed on this trial. The scales VAS, UMPS and CMPS-SF were used in the current study. As pain recognition and quantification is challenging due to the nature and behavior of the canine species, as well as the wide individual variability of pain expression, combined subjective and objective criteria should be taken into consideration (KIM et al., 2012). Several scales were proposed for pain assessment in dogs as described previously (FLÔR et al., 2012). As no scale is considered the gold standard and none of them is flawless (KIM et al., 2012), three combined objective and subjective scales that are very common on the current literature regarding pain scales were applied in the current trial.

VAS assessment revealed higher pain scores in both groups at 2, 4 and 6 hours postoperatively, which decreased at 8 and 12 hours. Significant decrease occurred at 24, 36 and 48 hours and, finally at 72 hours, when no difference was found in comparison to the

baseline values. There was no difference between surgical techniques in any time point (Figure 1). The correlation among evaluators 1x2, 2x3 and 1x3 was considered moderate (0.51; 0.58 e 0.76) according to criteria previously used (SANTOS, 2007). The VAS is considered by most as a semi-objective pain rating system (HORTA & FUKUSHIMA, 2014). It is a practical and easy method for assessing pain, which is widely applied in the veterinary setting. Moreover, consistent reports of its reliability and validity is highlighted by the current literature (FLÔR et al., 2012).

Regarding UMPS assessment, there was difference between baseline and 2, 4 and 6 hours on the GC, as verified on EVA assessment. On GV, there was no difference among time points, meaning absence of significant algic stimulus following laparoscopic-assisted surgery. Moreover, UMPS scores were lower in GV at 6 hours (Figure 1). Although others have observed that conventional celiotomy OVH resulted in significantly increased pain in most time points than two-port laparoscopic-assisted technique (DEVITT et al., 2005), it is suggested that such slight difference between surgical techniques found in this study occurred due to the analgesic regimen adopted. The correlation among evaluators (1x2, 2x3 and 1x3) was considered moderate, moderate and strong (0.75; 0.71 e 0.9) showing agreement and similarity of the results. The UMPS presents variables that limit interpretation of the evaluators (FLÔR et al., 2012; POHL et al., 2011), providing concordance among assessments (HORTA & FUKUSHIMA, 2014).

The CMPS-SF evaluation revealed increased pain on GC up to 8 hours postoperatively, with higher scores at 2, 4 and 6 hours, corroborating the results of the EVA and UMPS assessments. On the GV, pain was significantly present up to 12 hours, which returned to baseline at 24 hours. Pain scores were lower on GV at 24, 36, 48 and 72 hours (Figure 1). The CMPS-SF is composed by words that define behavioral variables, which does not provide double interpretation (FLÔR et al., 2012). According to others, CMPS-SF is one

of the most trustful scales for use in the canine specie, as it was based on the most common behaviors associated to pain and algic stimuli according to dozens of veterinary surgeons (HORTA & FUKUSHIMA, 2014). It is believed that the sensitivity of that scale was responsible for such increased difference between groups. Moderate correlation was observed among evaluators (0.51, 0.68 e 0.72), in accordance to the results of other study (FLÔR et al., 2012), which highlighted that the CMPS-SF does not allow double interpretations.

There were differences between groups regarding time on first spontaneous food intake ($p=0.01$), which was earlier on GV ($3.25\pm 1.83h$) than in GC ($7.75\pm 3.45h$). Such result could indicate less postoperative pain according to others (SALIBA et al., 2011). Postoperative pain impairs convalescence and may affect the respiratory function, cause cardiac arrhythmias and central hypersensitivity to noxious stimuli that produce chronic pain (LAMONT e TRANQUILLI, 2000; KIM et al., 2012). Furthermore, delayed pathological pain increases the risk of infection, impairs cicatrization and reduces food and water intake (SALIBA et al., 2011).

Considering time on first defecation, there was no difference between groups ($p=0.35$; GV= $19\pm 15.82h$; GC= $24.25\pm 11.28h$). Although early return of the motility of the gastrointestinal tract should be expected in dogs undergone endosurgical procedures rather than conventional open approaches (FREEMAN et al., 2010), such difference could not have found due to the effectiveness of the analgesic regiment adopted in the current study. Such results corroborated the statements of Lamont and Tranquilli (2000). The authors found that controlled pain minimally affects intestinal and bladder tonus, thus maintaining normal function of the gastrointestinal and urinary tracts.

It is known that OVH causes pain independently on technique used, which may vary according to tissue trauma and individual pain threshold (CAULKETT et al., 2003). In the current trial, tissue trauma was not affected by surgical time. Despite surgical time was longer

on the GV group ($p < 0.001$, $GV = 31.87 \pm 7.41 \text{ min}$ and $GC = 22.12 \pm 3.52 \text{ min}$), those patients experienced lower pain scores and earlier food intake in comparison to those undergone conventional OVH (GC).

Surgical time may be affected by technique of prophylactic hemostasis, intra-operative complications, experience of the surgeon and patient clinical status (DUTTA et al., 2010). Learning curve of the surgical team directly affects surgical time of laparoscopic OVH (MALM et al., 2004). In the current study, it is believed that the absence of adequate surgical table, which is traditionally indicated for laparoscopic spays (DEVITT et al., 2005) could have affected surgical time. Nevertheless, the use of electro-surgery equipment and instruments may result in less time spent for prophylactic hemostasis and overall surgical time during endosurgical spays (DEVITT et al., 2005; SILVA et al., 2011; ALVES et al., 2012).

Considering the results presented in the current trial, one can state that pain resulted from two-port laparoscopic-assisted surgery presents lower intensity in comparison to the conventional spay in dogs treated with the dipyrone-scopolamine-meloxicam association. Such analgesic protocol was effective for the control of pain following both conventional and two-port laparoscopic-assisted OVH, as no rescue analgesia was required at any time point, in contrast to the results of other studies (DAVIDSON et al., 2004; DEVITT et al., 2005). Despite no rescue analgesia was found necessary, the results presented in this study highlight the superiority of the laparoscopic approach concerning postoperative pain. The choice of the analgesic protocol used in this study was based on the results of other trials, which obtained reduced pain following conventional OVH using dipyrone (IMAGAWA et al., 2011) and meloxicam (CAULKETT et al., 2003).

The precise etiology of pain following laparoscopic surgery is still not clear. It is known that postoperative pain is multifactorial, which is divided into parietal and visceral pain (KIM et al., 2012). Celiotomy results in increased parietal pain due to surgical access

(ELHAKIM et al., 2000), besides visceral exposition and desiccation (DEVITT et al., 2005). Visceral pain results from visceral handling (KIM, et al., 2012), phrenic neuritis caused by compression of the diaphragm due to CO₂ pneumoperitoneum, peritoneal fluid acidosis (PASQUALUCCI et al., 1996) and mechanoreceptors of the visceral smooth muscles (A δ and C), which are responsive to tension applied to the peritoneum (LAMONT & TRANQUILLI, 2000). Additionally, direct trauma to vessels, traction on nerves and inadvertent sudden peritoneal distention may cause pain during laparoscopic surgery (GANEM et al., 2005).

It was hypothesized that bipolar cauterization and transection of the ovarian pedicle during laparoscopic approach produces less pain than pulling the ovarian pedicle and tearing the suspensory ligament during the conventional open spay, which causes peritoneal detachment and retroperitoneal hematoma (DEVITT et al., 2005). In the current study, the suspensory ligament was torn digitally in all dogs of the GC in order to make exposition and ligation of the ovarian pedicles safer, while in GV it was not quite necessary in no patient.

Three animals, two from GC and one from GV, had postoperative emesis. One patient of the GC vomited at 2 and 36 hours following surgery, while the other presented biliary vomiting at 1 and 3 hours. One dog of GV vomited 10 following intake of a large amount of food and again at 48 hours. The owners noted no other changes following hospital discharge. Nausea, vomiting, diarrhea and abdominal distention is commonly associated to postoperative pain. Although not very common, vomiting may occur in the first six hours postoperatively in animals undergone isoflurane anesthesia (IMAGAWA et al., 2011). Moreover, NSAIDS may cause emesis as they affect the metabolism of arachidonic acid by blocking the COX-1 pathway, which regulates the secretion of protective mucus on the gastrointestinal tract (CAULKETT et al., 2003). Although such episodes were transient, further investigations are required in order to assess gastrointestinal changes conferred by such analgesic regimen.

CONCLUSION

Two-port laparoscopic-assisted OVH technique provided lower intensity and shorter duration pain in comparison to the conventional median celiotomy approach, regarding the anti-inflammatory regimen used.

AKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank WEM Equipamentos Eletrônicos Ltda (Ribeirão Preto, SP, Brazil) and Lina Medical Inc. (Denmark) for providing the Lina Tripol Powerblade[®] 5mm diameter, 42-cm length laparoscopic bipolar forceps used for the laparoscopic-assisted OVH in this study.

REFERENCES

- ATAIDE, M.W. et al. Ovariosalpingohisterectomia vídeo-assistida ou convencional em cadelas com o uso de Ligasure atlasTM. **Ciência Rural**, v.40, p.1974-1979, 2010. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782010000900019>. Accessed in: 25 nov. 2014. doi: 10.1590/S0103-84782010005000158.
- BRUN, M.V. et al. Ovariohysterectomy in a dog by a hybrid NOTES technique. **The Canadian Veterinary Journal**, v.52, p.637-640, 2011. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3095161>>. Accessed in: 15 mar. 2014.
- CAULKETT, N. et al. A comparison of the analgesic effects of butorphanol with those of meloxicam after elective ovariohysterectomy in dogs. **The Canadian Veterinary Journal**, v.44, p.565-570, 2003. Available from: <http://scialert.net/fulltext/?doi=ajas.2012.164.173&org=12>>. Accessed in: 25 nov. 2014. doi: 10.3923/ajas.2012.164.173.
- CHANDRASEKHARAN, N.V. et al. 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 of the United States of America, v.99, n.21, p.13926-13931, 2002. Available from: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC129799/>>. Accessed in: 15 ago. 2014. doi: 10.1073/pnas.162468699.

DAVIDSON, E.B. et al. Comparison of laparoscopic ovariohysterectomy and ovariohysterectomy in dogs. **Veterinary Surgery**, v.33, p.62–69, 2004. Available from: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1532-950X.2004.04003.x/full>>. Accessed in: 12 set. 2014. doi: 10.1111/j.1532-950X.2004.04003.x.

DEVITT, C.M. et al. Duration, complications, stress, and pain of open ovariohysterectomy versus a simple method of laparoscopic-assisted ovariohysterectomy in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.227, p.921-927, 2005. Available from: <<http://avmajournals.avma.org/doi/abs/10.2460/javma.2005.227.921>> Accessed in: 10 ago. 2014. Doi: 10.2460/javma.2005.227.921.

ELHAKIM, M. et al. Intraperitoneal lidocaine for postoperative pain after laparoscopy. **Acta Anaesthesiologica Scandinavica**, v.44, p.280–284, 2000. Available from: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1034/j.1399-6576.2000.440310.x/pdf>>. Accessed in: 10 out. 2014. DOI: 10.1034/j.1399-6576.2000.440310.x.

FLÔR, P.B. et al. Avaliação da dor. In: FANTONI, D. **Tratamento da dor na clínica de pequenos animais**. São Paulo: Elsevier, 2012. Cap.9, p.81-92.

FREEMAN, L.J. et al. Comparison of pain and postoperative stress in dogs undergoing natural orifice transluminal endoscopic surgery, laparoscopic, and open oophorectomy. **Gastrointestinal Endoscopy**, v.72, n.2, p.373-380, 2010. Available from: <[http://www.giejournal.org/article/S0016-5107\(10\)00139-2/pdf](http://www.giejournal.org/article/S0016-5107(10)00139-2/pdf)>. Accessed in: 11 feb. 2014. Doi: 10.1016/j.gie.2010.01.066.

GANEM, E.M. et al. Eficácia da N-butilescopolamina e dipirona sódica associadas ao cetoprofeno no alívio da dor pós-operatória de pacientes submetidas a duas técnicas diferentes de laqueadura por laparoscopia. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v.55, p. 397-404, 2005. Available from: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S003470942005000400004&script=sci_arttext>. Accessed in: 25 nov. 2014. doi: 10.1590/S0034-70942005000400004.

HORTA, R.S.; FUKUSHIMA, F.B. Avaliação da nocicepção em cães e gatos. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer**, v.10, n.18; p.487-501, 2014. Available from: <<http://www.conhecer.org.br/enciclop/2014a/AGRARIAS/Avaliacao%20da%20nocicepcao.pdf>>. Accessed in: 25 nov. 2014.

IMAGAWA, H.V. et al. The use of different doses of metamizol for post-operative analgesia in dogs. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v.38, p.385–393, 2011. Available from: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1467-2995.2011.00617.x/pdf>>. Accessed in: 21 nov. 2013. Doi: 10.1111/j.1467-2995.2011.00617.x.

KIM, Y.K. et al. Sprayed intraperitoneal bupivacaine reduces early postoperative pain behavior and biochemical stress response after laparoscopic ovariohysterectomy in dogs. **Veterinary Journal**, v.191, p.188–192, 2012. Available from: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1090023311000712>>. Accessed in: 25 nov. 2014. doi: 10.1016/j.tvjl.2011.02.013.

LAMONT, L. A.; TRANQUILI, W. J. Physiology of pain. **Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practitioner**, v.30, p.703-728, 2000. Available from: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10932821>>. Accessed in: 25 nov. 2014. doi: 10.1016/j.cvsm.2008.09.003.

MACPHAIL, M.C. Surgery of the Reproductive and Genital Systems. In: FOSSUM, T.W. **Small Animal Surgery**. 4th.ed. St. Louis: Mosby, 2013. Cap.27, p.780-855.

MASSONI, F. Planos anestésico. In: _____. **Anestesiologia Veterinária: Farmacologia e técnicas**. Rio de Janeiro: Guanabara, 5.ed., cap.4, p.46-52, 2011.

PASQUALUCCI, A. et al., Preemptive analgesia: intraperitoneal local anesthetic in laparoscopic cholecystectomy. A randomized double blind, placebo controlled study. *Anaesthesia*, v.85, p.11-20, 1996. Available from: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8694355>>. Accessed in: 25 nov. 2014. doi: 10.1097/00000542-199607000-00003.

POHL, V.H. et al. Correlação entre as escalas visual analógica, de Melbourne e filamentos de Von Frey na avaliação da dor pós-operatória em cadelas submetidas à ovariossalpingohisterectomia. **Ciência Rural**, v.41, n.1, p.154-159, 2011. Available from: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782011000100025&script=sci_arttext>.

Accessed in: 24 mai. 2013. doi: 10.1590/S0103-84782011000100025.

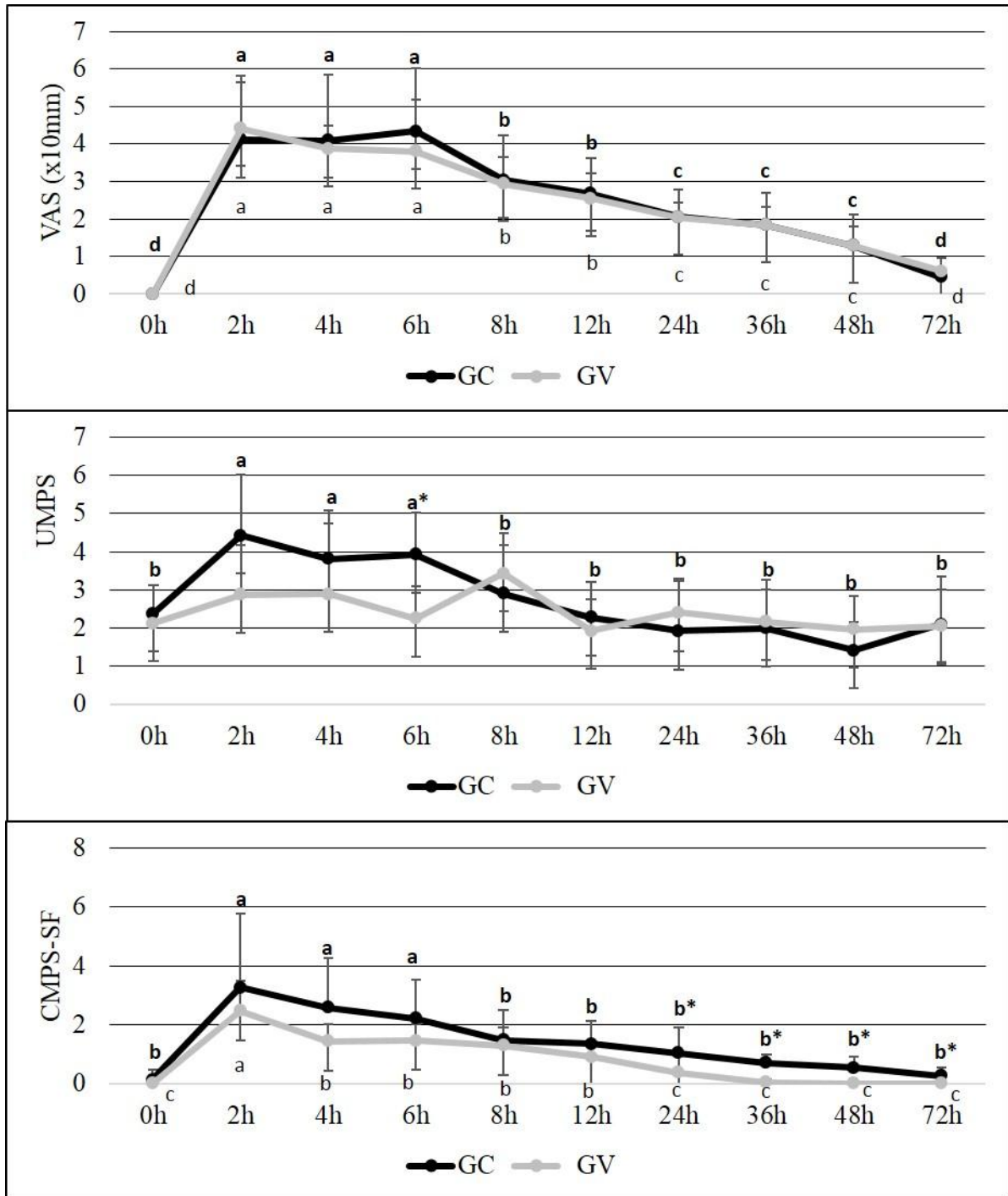
R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2014. Available from: <<http://www.R-project.org/>>. Accessed in: 23 jul. 2014.

SALIBA, R.; HUBER, R.; PENTER, J.D. **Controle da dor em pequenos animais**. Semina, v.32, supl.1, p.1981-1988, 2011. Available from: <<http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/5255>>. Accessed in: 7 mar 2014. doi:[10.5433/1679-0359.2011v32n4Sup1p1981](https://doi.org/10.5433/1679-0359.2011v32n4Sup1p1981).

SANTOS, Carla. Correlações. In: _____. **Estatística Descritiva - Manual de Auto-aprendizagem**. 2.ed. Lisboa: Edições Sílabo, 2007. 264p.

SILVA, M.A.M. et al. Single-port video-assisted ovariohysterectomy in bitches: retrospective study of 20 cases. *Cienc. Rural*, v.41, n.2, p.294-300, 2011. Available from: <http://www.scielo.br/pdf/cr/v41n2/a871cr4012.pdf>. Accessed in: jul, 14th, 2014. doi: 10.1590/S0103-84782011005000013.

Figure 1 – Mean and standard variation of the pain scores in bitches following two-port laparoscopic-assisted (GV) or conventional (GC) OVH, in different time points, using the Visual Analogue (VAS), the University of Melbourne (UMPS) and the short-form of the Glasgow Composite Measure (CMPS-SF) pain scales.



4 CAPÍTULO 3

BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS E INDICADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO EM CADELAS SUBMETIDAS À OVÁRIO-HISTERECTOMIA VIDEOASSISTIDA COM DOIS PORTAIS OU CONVENCIONAL TRATADAS COM ANTI-INFLAMATÓRIO

Fabíola Dalmolin, Cibele Lima Lhamas, Saulo Tadeu Lemos Pinto Filho, Marcos André Braz

Vaz, Fátima Husein Abdalla, Cíntia Melazzo Mazzanti, Maurício Veloso Brun.

(Artigo a ser enviado para publicação na Revista Ciência Rural)

Biomarcadores inflamatórios e indicadores de estresse oxidativo em cadelas submetidas à ovário-histerectomia videoassistida com dois portais ou convencional tratadas com anti-inflamatório¹⁰

Inflammatory and oxidative stress assessment in bitches submitted to conventional or two-port laparoscopic-assisted ovariohysterectomy and treated with anti-inflammatory drugs

Fabíola Dalmolin¹¹ Cibele Lima Lhamas¹² Saulo Tadeu Lemos Pinto Filho^{III} João Pedro Scussel Feranti^{III} Andriele Poerschke¹³ Rafael Colomé Beck^{IV} Fátima Husein Abdalla¹⁴
Cíntia Melazzo de Andrade¹⁵ Maurício Veloso Brun^{16*}

RESUMO

A laparoscopia é atualmente uma das principais ferramentas operatórias, com vantagens que incluem menor estresse, incisões e dor pós-operatória quando comparada aos procedimentos abertos. Objetivou-se comparar o processo inflamatório e estresse oxidativo resultantes das técnicas de ovário-histerectomia (OVH) convencional (GC) e videoassistida com dois portais em cadelas (GV) através de leucograma e mensuração da acetilcolinesterase, butirilcolinesterase, catalase e malondialdeído, imediatamente antes da cirurgia e duas, seis, 12, 24, 48 e 72 horas após a cirurgia. Observou-se menor estresse cirúrgico nos animais

¹⁰ Parte da Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária (PPGMV), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Santa Maria, RS, Brasil.

¹¹ Departamento de Medicina Veterinária, Fundação Universidade Regional de Blumenau (FURB).

¹² PPGMV, UFSM.

¹³ Alunos de graduação, UFSM.

¹⁴ Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas. Centro de Ciências Naturais e Exatas, UFSM.

¹⁵ Departamento de Clínica de Pequenos Animais, UFSM.

¹⁶ Departamento de Clínica de Pequenos Animais, UFSM. Bolsista CNPq/Brasil. Av. Roraima, 1000, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil. *Autor para correspondência.

E-mail: mauriciovelosobrun@hotmail.com.

operados pela técnica videoassistida, e sugere-se que a técnica convencional possa implicar em peroxidação lipídica, mesmo com uso de anti-inflamatório.

Palavras-chave: espécies reativas, videocirurgia, acetilcolinesterase, butirilcolinesterase, peroxidação lipídica.

ABSTRACT

Laparoscopy is currently such an important surgical tool with several benefits over the open surgery, including less surgical stress, shorter incisions and less postoperative pain. The purpose of this study was to compare the inflammatory process and oxidative stress between conventional (GC) and two-port laparoscopic-assisted (GV) ovariohysterectomy (OVH) in bitches. Complete blood counts (CBC) and serum acetylcholinesterase (AChE), butyrylcholinesterase (BChE), catalase and malondialdehyde were assessed on the baseline and at two, six, 12, 24, 48 and 72 hours after surgery. The animals submitted to videoassisted technic presented lower inflammatory response. There are suggestion that conventional technic promotes lipid peroxidation, despite anti-inflammatory use.

Key words: reactive species, videosurgery, acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, lipid peroxidation.

INTRODUÇÃO

Ao longo dos últimos 20 anos, a laparoscopia tornou-se importante ferramenta operatória para pequenos animais. Inicialmente utilizada para fins diagnósticos, atualmente na medicina permite realizar quase qualquer cirurgia previamente executada por laparotomia (GUVEN, 2010). Abordagens laparoscópicas resultam em menor estresse que procedimentos

abertos (FREEMAN et al., 2010), além de diminuir o tempo de internação hospitalar e dor pós-operatória, e permitir rápido retorno às atividades cotidianas (LEE e KIM, 2014).

O estresse apresenta infinidade de formas e é integrante de todas as doenças e traumas. A resposta ao estresse envolve hormônios, citocinas, alterações na função celular e efeitos sobre a neurotransmissão (THOMAS e BALASUBRAMANIAN, 2004). Entre os fatores envolvidos, podem ser citadas as catecolaminas, os hormônios adrenocorticotróficos, as citocinas, proteases, radicais livres, eicosanoides, proteínas de fase aguda e fatores de crescimento (KIM e DEUTSCHMAN, 2000). A acetilcolinesterase (AChE) e a butirilcolinesteras (BChE) séricas foram utilizadas como indicadores da inflamação de baixo grau (DAS, 2007), tendo sido utilizadas para avaliação de cães submetidos a diferentes técnicas de OVH (BASSO et al., 2014).

Espécies reativas são átomos, moléculas ou íons altamente instáveis e ativos para reações químicas. O equilíbrio entre a produção de espécies reativas e a neutralização por antioxidantes é delicado; quando o desequilíbrio tende à superprodução, as células sofrem estresse oxidativo, participante da patogênese de doenças cardiovasculares, neuropáticas, renais, hepáticas, inflamatórias e neoplasmas (CAROCHO e FERREIRA, 2013).

Considerando o trauma cirúrgico pode promover alterações orgânicas (ARSALANIZADEH et al., 2011), objetivou-se comparar a resposta inflamatória e o estresse oxidativo resultante das técnicas de OVH convencional e videoassistida por dois portais em cadelas medicadas com anti-inflamatórios.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram selecionadas por meio de exame clínico geral (frequência cardíaca, respiratória, temperatura e palpação de linfonodos) e laboratorial (hemograma, contagem plaquetária, creatinina, albumina, fosfatase alcalina e alanina aminotransferase), 14 cadelas hígdas adultas

até quatro anos de idade, com pesos variando entre $15,83 \pm 3,77$ kg. Foram incluídos apenas animais livres de alterações clínicas, laboratoriais e sem condições patológicas detectáveis ligadas ao sistema reprodutivo. A fim de confirmar tal condição, após a cirurgia, os úteros foram avaliados por meio de exame macro e microscópico (histopatológico).

As pacientes foram internadas 48 horas antes da cirurgia no local onde realizaram-se as avaliações pós-operatórias. Na ocasião, receberam 1mg.kg^{-1} de nitenpiram (via oral), além de água e ração comercial *ad libitum*; tiveram contato com o ambiente climatizado, pessoas envolvidas, outros animais e procedimento de avaliação. Após jejum pré-operatório sólido de 12 horas e hídrico de oito horas, realizou-se divisão aleatória em dois grupos por sorteio da técnica cirúrgica. Os animais foram tranquilizados com acepromazina ($0,05 \text{mg.kg}^{-1}$) e induzidos com propofol (4mg.kg^{-1}), sendo após intubados e mantidos com isoflurano em oxigênio 100%, sendo mantidos no estágio III, plano três de Guedel (MASSONI, 2011). Foi associada infusão intravenosa contínua de citrato de fentanila ($15 \mu\text{g.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$), regulada por bomba de infusão infusão peristáltica rotativa, 15 minutos antes do início do procedimento sem uso de bolus. A administração de ampicilina sódica (20mg.kg^{-1} , i.v.) foi realizada 30 minutos antes da cirurgia e a fluidoterapia instituída com solução de Ringer lactato de sódio ($10 \text{ml.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$, i.v.) até a extubação.

Todos os animais foram operados pelo mesmo cirurgião, proficiente em ambas as técnicas, utilizando o mesmo padrão cirúrgico. No grupo GC (Grupo convencional) realizou-se OSH por celiotomia mediana retroumbilical, com dimensões de um terço da distância entre a cicatriz umbilical e o púbis. No GV, os acessos foram com dois portais de 11mm, inseridos na região umbilical e pré-púbica (ATAÍDE et al., 2010). No GC foram realizadas ligaduras duplas nos pedículos ovarianos e coto uterino com poliglactina 910 nº 2-0 USP, conforme a técnica das três pinças modificada com ruptura manual do ligamento suspensório (MACPHAIL, 2013); no GV utilizou-se pneumoperitônio com pressão de 12mmHg e

cauterização bipolar para os pedículos ovarianos¹⁷ e ligaduras duplas no coto com o referido fio. Ao término da cirurgia as pacientes foram medicadas com a associação de dipirona (25mg.kg^{-1}), escopolamina ($0,2\text{mg.kg}^{-1}$) e meloxicam ($0,2\text{mg.kg}^{-1}$) i.v.; as doses subsequentes foram aplicadas q.i.d. (s.c.) e s.i.d (s.c.), respectivamente, completando 48 horas de tratamento. Foi realizada a fixação dos úteros em formol 10% para posterior avaliação histopatológica.

Foram coletadas amostras de sangue imediatamente antes das cirurgias por punção direta, e às duas, seis, 12, 24, 48 e 72h de pós-operatório por meio de cateter implantado na veia jugular com o paciente sob anestesia. Para o leucograma utilizaram-se amostras coletadas com EDTA e processadas conforme Jain (1993). A atividade da BChE foi determinada com soro obtido pela centrifugação de sangue acondicionado em tubos sem anticoagulante, conforme Ellman et al. (1961). Para AChE utilizou-se sangue total com EDTA e ensaio pelo método de Ellman et al. (1961) modificado por Worek et al. (1999). A atividade da catalase (CAT) foi verificada utilizando-se sangue total e citrato de sódio, e o método modificado de Nelson e Kiesow (1972). A peroxidação lipídica foi determinada a partir de soro (obtido conforme descrição anterior) pela técnica de TBARS (substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico), conforme Jentsch et al. (1996). As proteínas dos ensaios enzimáticos foram mensuradas segundo Bradford (1976), utilizando albumina bovina como padrão. Exceto as amostras do leucograma, todas foram congeladas a -20°C , e após a -80°C até a análise.

Todos os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Posteriormente, foram comparados entre os diferentes momentos pelo teste F da Análise de Variância (ANOVA). A fim de comparar as variáveis utilizou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis e para as médias dos grupos o teste Scott-Knott. As análises foram realizadas por programação no software R (2014), sendo considerado nível de significância de 5%.

¹⁷ Lina Tripol Powerblade®, Lina Medical Inc., Dinamarca. Distribuído por WEM Equipamentos Eletrônicos Ltda., Ribeirão Preto, SP, Brasil.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se leucocitose ao hemograma em ambos os grupos, sem diferenças entre os mesmos. São resultantes da anestesia e trauma cirúrgico alterações desfavoráveis na homeostase corporal normal, coletivamente referidos como estresse cirúrgico (LEE e KIM, 2014). Tais alterações cursam com resposta inflamatória local, sistêmica, endócrina, metabólica, humoral e pela ativação imunológica de vários sistemas (KÜCÜKAKIN, 2009). A inflamação, um dos mais importantes e úteis mecanismos de defesa do hospedeiro, envolve constituintes celulares, humorais e teciduais após lesão celular ou tecidual. Leucócitos, neutrófilos, eosinófilos, basófilos, mastócitos, monócitos, macrófagos, linfócitos e células do plasma contribuem pela migração, liberação de enzimas e mediadores inflamatórios, além de induzirem fagocitose (VAJDOVICH, 2008).

Na contagem diferencial de leucócitos verificou-se diferença entre os grupos. Com relação aos neutrófilos verificou-se, tanto no GC como no GV, aumento da contagem em seis e 12h, com redução às 24h, sendo verificados em ambos os grupos valores estatisticamente semelhantes aos basais às 48h e 72h. Entre os grupos, houve diferença em 6h ($p=0,01$), com menor contagem celular no GV (Figura 1). Quando há resposta sistêmica, observa-se muitas vezes aumento nos leucócitos circulantes no sangue (VAJDOVICH, 2008), conforme verificado em ambos os grupos em 6h, 12h e 24h, mesmo com o uso do anti-inflamatório. A menor intensidade de resposta no GV pode ser justificada conforme sugestão de Desborough (2000), de que a videocirurgia, de maneira geral, provoca menor injúria tecidual que os procedimentos convencionais abertos.

Observou-se no GC diminuição significativa na contagem de linfócitos às duas e seis horas de pós-operatório, com retorno aos valores basais após 12h. No GV, estas variações não foram observadas entre os tempos; entre os grupos, houve diferença em 6h ($p=0,01$), com menor contagem no GC (Figura 1). Com relação aos eosinófilos não foram verificadas

alterações no GV. No GC, verificou-se diferença entre os tempos com diminuição da contagem em duas, seis e 12h, que retornou aos valores normais 24h após o procedimento. Houve diferença entre os grupos em duas, seis, 12 e 24 horas ($p=0,01$; $p=0,00$, $p=0,00$ e $p=0,00$, respectivamente), sendo as menores contagens observadas no GC (Figura 1).

A resposta leucocitária com neutrofilia, linfopenia, monocitose e eosinopenia caracterizam o hemograma de estresse (MEYER et al., 1995), resposta orgânica mediada pela liberação de cortisol decorrente de doenças sistêmicas, distúrbios metabólicos e dor (TRALL, 2007). A exceção da monocitose, neutrofilia, linfopenia e eosinopenia foram verificadas no GC, indicando maior resposta ao estresse cirúrgico da técnica convencional em razão da videoassistida. Tal situação corrobora com o citado por Desborough, (2000) de que a videocirurgia é menos traumática que a convencional.

Considerando que o papel da acetilcolina na supressão da inflamação, a mensuração das colinesterases que regulam a concentração desta enzima pode ser útil na identificação da inflamação (ULLOA, 2005). Como não se verificou aumento na atividade da AChE e BChE em ambos os grupo, há indicativo de baixa atividade da acetilcolina, mediador regulador da produção de citocinas pró-inflamatórias, indicando baixa presença de inflamação. Embora BASSO et al. (2014) tenham identificado alterações nas mensurações destas enzimas em pacientes operados pela técnica convencional, neste trabalho a ausência de alteração foi associada ao uso de anti-inflamatório, que modulou a resposta inflamatória do organismo.

Lesão peritoneais causam liberação de plaquetas, fibrinogênio, histamina, e cininas vasoativas. A geração de espécies reativas também é observada, e a remoção inadequada e/ou altos níveis desses produtos resultam do estresse oxidativo, que pode alterar o funcionamento metabólico, causar dano celular (SOUZA et al., 2003) e provocar mudanças permanentes no material genético. Sabe-se ainda que há correlação destas moléculas com processos

patológicos (VAJDOVICH, 2008), de envelhecimento (VASCONCELOS et al., 2007), mutagênese e carcinogênese (VAJDOVICH, 2008).

Não foram verificadas diferenças significativas entre os tempos, nem entre os grupos com relação às mensurações da CAT (Figura 1), fato que pode ser associado ao uso de anti-inflamatório. Entretanto, deve-se considerar que a CAT, principal responsável pela desintoxicação celular e oxidação de ácidos graxos de cadeia longa, é apenas uma das enzimas da defesa antioxidante. Desta maneira, não se pode afirmar que não houve estresse oxidativo baseando-se apenas em um resultado isolado, já que este poderia ser correlacionado a enzimas como a superóxido dismutase e a glutathione peroxidase (VASCONCELOS et al., 2007). Assim, sugere-se associar essas variáveis em outros estudos para melhor elucidação.

Não se verificaram diferenças das mensurações do MDA no GV. No GC, entretanto, verificou-se diferença entre os tempos e entre os grupos às 24h ($p=0,04$) (Figura 1). O MDA, produto secundário da peroxidação lipídica, é derivado da ruptura de ácidos graxos poli-insaturados (ácido linoléico, araquidônico e docosaexanóico), sendo considerado potencial biomarcador geral de dano oxidativo no plasma (VASCONCELOS et al., 2007). O aumento pontual da mensuração do MDA pode sugerir peroxidação lipídica no GC, fato não observado nos animais operados pela técnica videoassistida. Este parâmetro deve ser melhor investigado através de aferições adicionais de outros biomarcadores em estudos subsequentes.

Embora tenha sido necessário maior tempo para realização da técnica videoassistida ($p=0,01$; GV= $31,87\pm 7,41$ min e GC= $22,12\pm 3,52$ min), não foi observado estresse oxidativo neste grupo. Como se tem conhecimento que a duração da cirurgia e o tempo de isquemia/reperfusão determinam a formação de espécies reativas e o grau de estresse oxidativo (KÜCÜKAKIN, 2009; GUVEN, 2010), acredita-se que o tempo não tenha sido tão longo para causar esta alteração, e ainda, o balanço oxidativo possa ter sido atenuado pela utilização de anti-inflamatórios.

CONCLUSÃO

Conclui-se que a técnica de OVH videoassistida por dois portais em caninos medicados com dipirona associada à escopolamina e meloxicam causa menor estresse cirúrgico e sugere-se que a técnica convencional possa implicar em peroxidação lipídica.

COMITÊ DE ÉTICA

Aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais em Ensino e Pesquisa (CEUA) da Universidade onde foi realizado sob parecer 081/2012(4).

AGRADECIMENTO

À empresa WEM Equipamentos Eletrônicos Ltda, pelo fornecimento das pinças bipolares (Lina Tripol Power Blade), utilizadas nos procedimentos de OVH videoassistidos.

REFERÊNCIAS

ATAIDE, M.W. et al. Ovariosalpingohisterectomia vídeo-assistida ou convencional em cadelas com o uso de Ligasure atlas™. **Ciência Rural**, v.40, p.1974-1979, 2010. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782010000900019>.

Acesso em: 25 nov. 2014. doi: 10.1590/S0103-84782010005000158.

ARSALANI-ZADEH, R. et al. Oxidative stress in laparoscopic versus open abdominal surgery: a systematic review. **Journal of Surgical Research**, v.169, n.1, p.59-68, 2011.

Disponível em: URL: [http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022-4804\(11\)00064-3](http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022-4804(11)00064-3).

Acesso em 5 fev. 2014. DOI: 10.1016/j.jss.2011.01.038.

BASSO, P.C. et al. Biomarcadores inflamatórios e indicadores de estresse oxidativo em cadelas submetidas à ovariosalpingohisterectomia convencional, por NOTES híbrida e NOTES total. **Ciência Rural**, v.44, n.5, p.884-890, 2014. Disponível em: URL:

http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782014000500020&script=sci_arttext. [2014 jun. 6]. DOI: [10.1590/S0103-84782014000500020](https://doi.org/10.1590/S0103-84782014000500020).

BRADFORD, M.M. A rapide and sensitive method for quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, n.1-2, p.248-254, 1976. Disponível em: URL: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/942051>>. Acesso em: 23 jun. 2014. DOI: 10.1016/0003-2697(76)90527-3.

CAROCHO, M., FERREIRA, I.C.F.R. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. **Food and Chemical Toxicology**, v.51, p.15-25, 2013. Disponível em: URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691512006941>. Acesso em: 23 jun. 2014. DOI: 10.1016/j.fct.2012.09.021.

DALMOLIN, F. Ovário-histerectomia videoassistida ou convencional: análise álgica, inflamatória e de estresse oxidativo. cap. 2, Tese. Santa Maria, 2014.

DAS, U.N. Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase as possible markers of low-grade systemic inflammation. **Medical Science Monitor**, v.13, n.12, p.214-221, 2007. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18049445>>. Acesso em: 21 ago. 2014.

DESBOROUGH JP. The stress response to trauma and surgery. *Br J Anaesth*, 2000; 85(1): 109-117. Disponível em: URL: <http://bjaoxfordjournals.org/content/85/1/109.long>. Acesso em: 5 jan. 2014. DOI: 10.1093/bja/85.1.109.

ELLMAN, G.L. et al. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, v.7, p.88-95, 1961. Disponível em: URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0006295261901459>. Acesso em: 5 ago. 2014.

FREEMAN, L.J. et al. Comparison of pain and postoperative stress in dogs undergoing natural orifice transluminal endoscopic surgery, laparoscopic, and open oophorectomy.

Gastrointestinal Endoscopy, v.72, n.2, p.373-380, 2010. Disponível em: URL: <[http://www.giejournal.org/article/S0016-5107\(10\)00139-2/abstract](http://www.giejournal.org/article/S0016-5107(10)00139-2/abstract)>. Acesso em: 01 dez. 2014. doi: 10.1016/j.gie.2010.01.066.

GUVEN, S. et al. The effects of carbon dioxide pneumoperitoneum on ovarian blood flow, oxidative stress markers, and morphology during laparoscopy: a rabbit model. **Fertility and Sterility**, v.93, n.4, p.1327-1332, 2010. Disponível em: URL: [http://www.fertstert.org/article/S0015-0282\(08\)04428-2/abstract](http://www.fertstert.org/article/S0015-0282(08)04428-2/abstract). Acesso em: 05 jan. 2014. doi:10.1016/j.fertnstert.2008.10.053.

JAIN, N.C. *Essentials of Veterinary Hematology*. Philadelphia: Lea e Febiger, 1993.

JENTZSCH, A.M. et al. Improved analysis of malondialdehyde in human body fluids. **Free Radical Biology & Medicine**, v.20, n.2, p.251-256, 1996. Disponível em: URL: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0891584995020438>>. Acesso em: 15 de set. 2014. DOI: 10.1016/0891-5849(95)02043-8.

KIM, P.K.; DEUTSCHMAN, C.S. Inflammatory responses and mediators. **Surgical clinics of America**, v.80, n.3, p.885-894, 2000. Disponível em: URL: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S003961090570102X>>. Acesso em: 9 mai. 2014. DOI: 10.1016/S0039-6109(05)70102-X.

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. Disponível em: URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022480407024110>. Acesso em: 2 ago. 2014. DOI: 10.1016/j.jss.2007.12.753.

[LEE](#), J.Y.; [KIM](#), M.C. Comparison of oxidative stress status in dogs undergoing laparoscopic and open ovariectomy. **J Vet Med Sci**. v.76, n.2, p.273–276, 2014. Disponível em: URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3982810/>. Acesso em: 1 out. 2014.

LIN, E. et al. Inflammatory cytokines and cell response in surgery. **Surgery**, v.127, n.2, 2000.

Disponível em: URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10686974>. Acesso em: 2 out. 2014. DOI: 10.1067/msy.2000.101584.

MASSONI, F. Planos anestésico. In: _____. **Anestesiologia Veterinária: Farmacologia e técnicas**. Rio de Janeiro: Guanabara, 5.ed., cap.4, p.46-52, 2011.

MACPHAIL, M.C. Surgery of the Reproductive and Genital Systems. In: FOSSUM, T.W. **Small Animal Surgery**. 4th.ed. St. Louis: Mosby, 2013. cap. 27, p.780-855.

MEYER, D.J. et al. Medicina de Laboratório Veterinária - Interpretação e Diagnóstico. 1. ed., São Paulo: Roca., p. 27-29, 1995.

MENGER, M.D.; VOLLMAR, B. Surgical trauma: hyperinflammation versus immunosuppression? **Langenbecks Archive of Surgery**, v.389, p.475–484, 2004. Disponível em: URL: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00423-004-0472-0#page-1>. Acesso em: 2 ago. 2014.

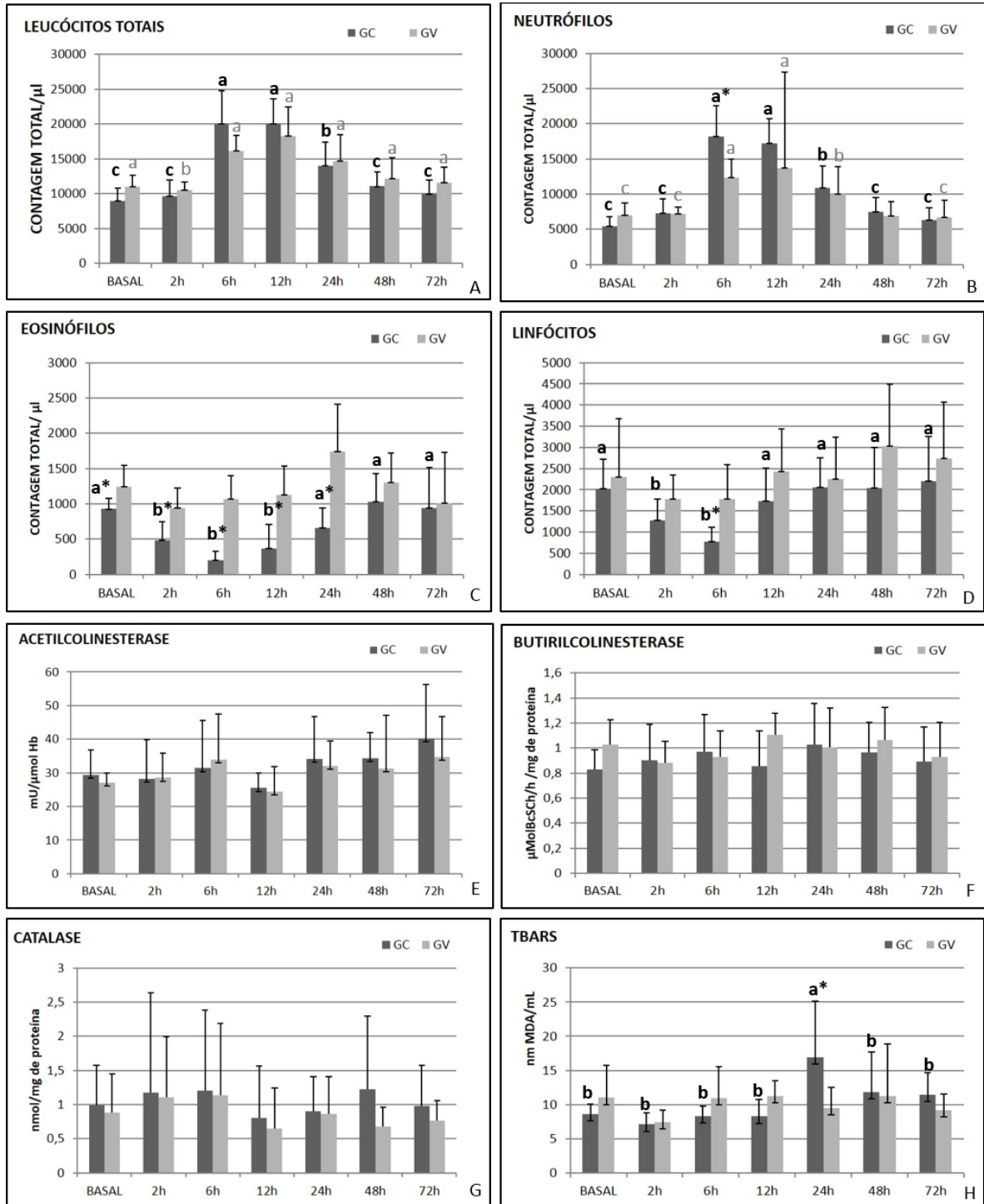
NELSON, D.L.; KIESOW, L.A. Entalpy of the composition of hydrogen peroxide by catalase at 25°C. **Analytical Biochemistry**, v.49, p.474-479, 1972. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Entalpy+of+the+composition+of+hydrogen+peroxide+by+catalase+at+25%C2%BAC>>. Acesso em: 2 ago. 2014.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2014. Disponível em: <<http://www.R-project.org/>>. Acesso em: 23 jul. 2014.

SOUZA, A.M.B. et al. Comparison of peritoneal oxidative stress during laparoscopy and laparotomy. **The Journal of the American Association of Gynecologic Laparoscopists**, v.10, n.1, p.65–74, 2003. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S107438040560237X>>. Acesso em: 21 abr. 2014.

- THOMAS, S.; BALASUBRAMANIAN, K.A. Role of intestine in postsurgical complications: involvement of free radicals. **Free Radical Biology & Medicine**, v.36, n.6, p.745-756, 2004. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0891584903007676>. Acesso em: 9 mai, 2014. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2003.11.027.
- TRALL, M. A. Hematologia e Bioquímica Veterinária. 1. ed. São Paulo: Roca, p.135, 2007.
- ULLOA L. 2005. The vagus nerve and the nicotinic anti-inflammatory pathway. **Nature Reviews Drug Discovery**, v.4, p.673-684, 2005. Disponível em: <<http://www.nature.com/nrd/journal/v4/n8/full/nrd1797.html>>. Acesso em: 1 fev. 2014.
- VAJDOVICH P. Free radicals and antioxidants in inflammatory processes and ischemia-reperfusion injury. **Veterinary Clinics Small Animal Practice**, v.38, p.31-123, 2008. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195561607001428>. Acesso em: 14 set. 2014. DOI 10.1016/j.cvsm.2007.11.008.
- VASCONCELOS, S.M.L. et al. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Quim. Nova**, v.30, n.5, p.1323-1338, 2007. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422007000500046. Acesso em: 14 set. 2014. DOI 10.1590/S0100-40422007000500046.
- WOREK, F. et al. Improved determination of acetylcholinesterase activity in human whole blood. **Clinica Chimica Acta**, v.288, p.73-90, 1999. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009898199001448>>. Acesso em: 14 set. 2014. DOI: 10.1016/S0009-8981(99)00144-8.

Figura 1 – Médias e desvios padrão dos parâmetros inflamatórios e de estresse oxidativo de cadelas submetidas à OVH videoassistida com dois portais ou convencional. Contagem total de leucócitos (A), neutrófilos (B), eosinófilos (C) e linfócitos (D). Atividade sérica da acetilcolinesterase (E), butirilcolinesterase (F), catalase (G) e malondialdeído (TBARS) (H).



CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando a metodologia empregada neste trabalho, pode-se concluir que:

- A técnica de OVH videoassistida com dois portais implica em menor e mais curto estímulo algico se comparada à técnica convencional em cadelas tratadas com anti-inflamatórios;

- A associação de dipirona à escopolamina e meloxicam proporciona adequada analgesia pós OVH convencional e videoassistida com dois portais em cadelas;
- Observa-se nos animais operados pela técnica convencional maior estresse pós-cirúrgico e pontual peroxidação lipídica, mesmo com uso de anti-inflamatórios.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, F. et al. Revisão científico-literária da resolução de piómetra por ovariohisterectomia laparoscópica numa cadela. **Revista Lusófona de Ciência e Medicina Veterinária**, v. 5, p. 31-38, 2012. Disponível em: <<http://revistas.ulusofona.pt/index.php/rlcmv/article/view/3015>>. Acesso em: 1 out. 2014.

ARSALANI-ZADEH, R. et al. Oxidative stress in laparoscopic versus open abdominal surgery: a systematic review. **Journal of Surgical Research**, v. 169, n. 1, p. 59-68, 2011. Disponível em: <[http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022-4804\(11\)00064-3](http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022-4804(11)00064-3)> Acesso em: 5 fev. 2014.

BASSO, P. C. et al. Biomarcadores inflamatórios e indicadores de estresse oxidativo em cadelas submetidas à ovariosalpingohisterectomia convencional, por NOTES híbrida e NOTES total. **Ciência Rural**, v. 44, n. 5, p. 884-890, 2014. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782014000500020&script=sci_arttext>. Acesso em: 5 ago. 2014.

BERNSTEIN, M. A. et al. **Is complete laparoscopic colectomy superior to laparoscopic assisted colectomy?** **American Surgery**, v. 62, p. 507–511, 1996.

BRUN, M. V.; SILVA FILHO, A. P. F.; BECK, C. A. C. Ovário-histerectomia em caninos por cirurgia laparoscópica. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 37, n. 6, São Paulo, dez. 2000. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/77265>>. Acesso em: 15 mar. 2014.

BRUN, M. V. Cirurgias do aparelho reprodutor feminino de caninos. In: _____. **Videocirurgia em pequenos animais**. Rio de Janeiro: Roca, 2015. cap. 14, p. 186-213.

BRUN, M. V. et al. Ovariohysterectomy in a dog by a hybrid NOTES technique a case report. **Canine Veterinary Journal**, v. 52, p. 637–640, 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3095161/>>. Acesso em: 15 mar. 2014.

BRUN, M. V.; BECK, C. A.C. Aplicações clínicas e experimentais da laparoscopia em cães - artigo de revisão. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia da PUCRS**, v. 5-6, n. 1, p. 123-135, 1999.

COSTA, M. M. et al. Cholinesterase as inflammatory markers in a experimental infection by *Trypanosoma evansi* in rabbits. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 84, n. 4, p. 1105-1113, 2012. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0001-37652012000400024&script=sci_arttext&tlng=pt>. Acesso em: 1 fev. 2014.

DAS, U. N. Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase as possible markers of low-grade systemic inflammation. **Medical Science Monitor**, v. 13, n. 12, p. 214-221, 2007. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18049445>>. Acesso em: 21 ago. 2014.

DAVIDSON, E. B. et al. Comparison of laparoscopic ovariohysterectomy and ovariohysterectomy in dogs. **Veterinary Surgery**, v.33, p.62–69, 2004. Available from: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1532-950X.2004.04003.x/full>>. Accessed in: 12 set. 2014. doi: 10.1111/j.1532-950X.2004.04003.x.

DEVITT, C. M. et al. Duration, complications, stress, and pain of open ovariohysterectomy versus a simple method of laparoscopic-assisted ovariohysterectomy in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 227, n. 6, p. 921-927, 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16190590>>. Acesso em: 10 ago. 2014.

DUQUE, C. T. N.; MORENO, J. C. D. Anestesia e analgesia para videolaparoscopia. In: Brun, M.V. **Videocirurgia em pequenos animais**. Rio de Janeiro: Roca, 2015. cap. 2, p. 7-20.

FINGLAND, R. B. Ovariohisterectomía. In: BOJRAB, M. J. (Ed.). **Técnicas Actuales en Cirugía de Pequeños Animales**. 4. ed. Buenos Aires: Inter-médica, p. 449-456, 2000.

FIRTH, A. M.; HALDANE, S. L. Development of a scale to evaluate postoperative pain in dogs. **J Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 214, n. 5, p. 651-659, 1999.

FLÔR, P. B. et al. Avaliação da dor. In: FANTONI, D. **Tratamento da dor na clínica de pequenos animais**. São Paulo: Elsevier, 2012. Cap. 9, p. 81-92.

FREEMAN, L. J. et al. Comparison of pain and postoperative stress in dogs undergoing natural orifice transluminal endoscopic surgery, laparoscopic, and open oophorectomy. **Gastrointestinal Endoscopy**, v. 72, n. 2, p. 373-380, 2010. Disponível em: <[http://www.giejournal.org/article/S0016-5107\(10\)00139-2/pdf](http://www.giejournal.org/article/S0016-5107(10)00139-2/pdf)>. Acesso em: 11 fev. 2014.

FREEMAN, L.J. **Veterinary endosurgery**. Saint Louis: Mosby, 1999. 276p.

GAYNOR, J. S.; MUIR, W. W. Manual de controle da dor em medicina veterinária. 2. ed. São Paulo: **Med Vet**, 2009.

GOMELLA, L. G.; STRUP, S. E. The history of urologic laparoscopy: from cystoscope to laparoscope. In: GOMELLA, L. G.; KOZMINSKI, M.; WINFIELD, H. N. **Laprosopic Urologic Surgery**. New York: Raven Press, 1994. 286 p. p. 9-14.

GRAUER, G. F.; TWEDT, D. C.; MERO, K. N. Evaluation of laparoscopy for obtaining renal biopsy specimens from dogs and cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 183, n. 6, p. 677-9, 1983.

HOLTHAUSEN, U. H.; NAGELSCHMIDT, M.; TROIDL, H. CO₂ pneumoperitoneum: what we know and what we need to know. **World Journal of Surgery**.1999; 23(8):794-800.

HOLTON, L. L. et al. Comparison of three methods used for assessment of pain in dogs. **J Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 212, p. 61-66, 1998.

HOWELL, M. L. Surgical methods of contraception and sterilization. **Theriogenology**, v. 66, p. 500-509, 2009.

KIM, P. K.; DEUTSCHMAN, C. S. Inflammatory responses and mediators. **Surgical clinics of North America**, v. 80, n. 3, p. 885-894, 2000. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S003961090570102X>>. Acesso em: 5 out. 2013.

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. Disponível em: <[http://www.journalofsurgicalresearch.com/article/S0022-4804\(07\)02411-0/abstract](http://www.journalofsurgicalresearch.com/article/S0022-4804(07)02411-0/abstract)>. Acesso em: 21 nov. 2013.

LEE, J. Y.; KIM, M. C. Comparison of oxidative stress status in dogs undergoing laparoscopic and open ovariectomy. **The Journal of Veterinary Medicine Science**. v. 76, n. 2, p. 273–276, feb. 2014. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24107463> >. Acesso em: 2 out. 2014.

LEIGHTON, T. et al. Effectors of hypercarbia during experimental pneumoperitoneum. **American Surgery**. v. 58, n. 12, p. 717-21, 1992.

LUZ, M. J. et al. Ovariectomia por via laparoscópica em cadela com ovário remanescente. **MedVep**, v. 7, n. 22, p. 372-376, 2009.

MACPHAIL, M. C. Surgery of the Reproductive and Genital Systems. In: FOSSUM, T. W. **Small Animal Surgery**. 4th ed. St. Louis: Mosby, 2013. p. 780-855.

OLIVEIRA, M. T. Alterações inflamatórias na videocirurgia. In: _____. **Videocirurgia em pequenos animais**. Rio de Janeiro: Roca, 2015. cap. 6, p. 68-71.

PEÑA, F. J. et al. Laparoscopic surgery in a clinical case of seminoma in a cryptorchid dog. **The Veterinary Record**, v. 142, n. 24, p. 671-2, 1998.

RAWLINGS, C. A. et al. Prospective evaluation of laparoscopic-assisted gastropexy in dogs susceptible to gastric dilatation. **Journal of American Veterinary Medicine Association**. v. 221, p. 1576–1581, 2002.

REID, J. et al. Development of the short-form Glasgow Composite Measure Pain Scale (CMPS-SF) and derivation of a analgesic intervention score. **Anim. Welf.**, v. 16, p. 97-104, 2007.

SEAGER, S. W. J. Reproductive Laparoscopy. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 20, n. 5, p. 1369-1375, 1990. Disponível em: <<http://europepmc.org/abstract/MED/2146795>>. Acesso em: 21 nov. 2013.

SILVA, M. A. M. et al. Pure-transvaginal natural orifice transluminal endoscopic surgery (NOTES) ovariohysterectomy in bitches: a preliminary feasibility study. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 7, p. 1237-1242, jul., 2012. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782012000700016&script=sci_arttext>. Acesso em: 01 out. 2013.

SILVA, M. A. M. et al. Single-port video-assisted ovariohysterectomy in bitches: retrospective study of 20 cases. **Cienc. Rural**, v. 41, n. 2, p. 294-300, 2011. Available from: <http://www.scielo.br/pdf/cr/v41n2/a871cr4012.pdf>. Accessed in: jul. 14th, 2014. doi: 10.1590/S0103-84782011005000013.

SPAIN, C. V. et al. Long-term risks and benefits of early-age gonadectomy in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 224, n. 3, p. 380-387, 2004. Disponível em: <<http://avmajournals.avma.org/doi/abs/10.2460/javma.2004.224.380>>. Acesso em: 21 nov. 2013.

THOMAS, S.; BALASUBRAMANIAN, K. A. Role of intestine in postsurgical complications: involvement of free radicals. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 36, n. 6, p. 745-756, 2004. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0891584903007676>>. Acesso em: 21 nov. 2013.

ULLOA, L. 2005. The vagus nerve and the nicotinic anti-inflammatory pathway. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 4, p. 673-684, 2005. Disponível em: <<http://www.nature.com/nrd/journal/v4/n8/full/nrd1797.html>>. Acesso em: 1 fev. 2014.

USON, J.; TEJEDO, V.; VIVES, M. A.; EZQUERRA, L. J.; USON, J. M. Thérapeutique laparoscopique: l'ovariectomie et la ligature des cornes utérines chez la chienne. **Recueil de Médecine Vétérinaire Spécial Endoscopie**, v. 168, n. 3/4, p. 237-41, 1992.

VASCONCELOS, S. M. L. et al. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1323-1338, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422007000500046>. Acesso em: 21 nov. 2013.

ANEXOS

ANEXO A – Escala Visual Analógica (EVA)



Fonte: Flôr et al. (2012).

ANEXO B – Escala de dor da Universidade de Melbourne

Observação	Score	Características
FC	1	> 20% valor basal
	2	> 50% valor basal
	3	> 100% valor basal
F	1	> 20% valor basal
	2	> 50% valor basal
	3	> 100% valor basal
PAS	1	> 20% valor basal
	2	> 50% valor basal
	3	> 100% valor basal
Temperatura retal	1	Acima do valor basal
Salivação	2	
Pupilas dilatadas	2	
Resposta à palpação	0	Normal
	2	Reage/ Protege a ferida no momento do toque
	3	Reage/ Protege a ferida antes do toque
Atividade	0	Dormindo
	0	Semiconscente
	1	Acordado
	0	Alimenta-se
	2	Agitado
	3	Mudanças contínuas de posição, mutilação
Status mental	0	Dócil
	1	Amigável
	2	Cauteloso
	3	Alerta
Postura	2	Protege a área afetada
	0	Decúbito lateral
	1	Decúbito esternal
	1	Sentado ou em pé, cabeça elevada
	2	Em pé, cabeça baixa
	1	Movimenta-se
	2	Postura anormal
Vocalização	0	Não vocaliza
	1	Vocaliza quando tocado
	2	Vocalização intermitente
	3	Vocalização contínua

Fonte: Firth e Haldane (1999).

ANEXO C – Forma Simplificada da escala de Dor Composta de Glasgow

SHORT FORM OF THE GLASGOW COMPOSITE PAIN SCALE

Dog's name _____

Hospital Number _____ Date / / Time _____

Surgery Yes/No (delete as appropriate) _____

Procedure or Condition _____

In the sections below please circle the appropriate score in each list and sum these to give the total score.

A. Look at dog in Kennel

Is the dog?

(i)		(ii)	
Quiet	0	Ignoring any wound or painful area	0
Crying or whimpering	1	Looking at wound or painful area	1
Groaning	2	Licking wound or painful area	2
Screaming	3	Rubbing wound or painful area	3
		Chewing wound or painful area	4

In the case of spinal, pelvic or multiple limb fractures, or where assistance is required to aid locomotion do not carry out section B and proceed to C. Please tick if this is the case then proceed to C.

B. Put lead on dog and lead out of the kennel.

When the dog rises/walks is it?

(iii)	
Normal	0
Lame	1
Slow or reluctant	2
Stiff	3
It refuses to move	4

C. If it has a wound or painful area including abdomen, apply gentle pressure 2 inches round the site.

Does it?

(iv)	
Do nothing	0
Look round	1
Flinch	2
Growl or guard area	3
Snap	4
Cry	5

D. Overall

<i>Is the dog?</i>		<i>Is the dog?</i>	
(v)		(vi)	
Happy and content or happy and bouncy	0	Comfortable	0
Quiet	1	Unsettled	1
Indifferent or non-responsive to surroundings	2	Restless	2
Nervous or anxious or fearful	3	Hunched or tense	3
Depressed or non-responsive to stimulation	4	Rigid	4

© University of Glasgow

Total Score (i+ii+iii+iv+v+vi) = _____