

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
INSTITUTO DE CIENCIAS CLÍNICAS VETERINARIAS

**INDICADORES DE ESTRÉS EN EQUINOS SOMETIDOS A ORQUIECTOMÍA
TRATADOS CON ANALGESIA PREVENTIVA EN BASE A TRAMADOL O
FENILBUTAZONA.**

Memoria de título presentada como parte
de los requisitos para optar al TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO

DANIELA CONSTANZA FLORES AMPUERO

VALDIVIA-CHILE

2010

PROFESOR PATROCINANTE

Dr. Juan Galecio N.

Firma

PROFESOR COPATROCINANTE

Dr. Daniel Herzberg V.

Firma

PROFESORES CALIFICADORES

Dr. Rafael Burgos A.

Firma

Dr. Bruno Carvalho M.

Firma

FECHA DE APROBACIÓN: 20 de Mayo del 2010

A mi familia, con todo mi amor

ÍNDICE

Capítulo	Página
1. RESUMEN.....	1
2. SUMMARY.....	2
3. INTRODUCCIÓN.....	3
4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	14
5. RESULTADOS.....	18
6. DISCUSIÓN.....	24
7. BIBLIOGRAFÍA.....	29
8. AGRADECIMIENTOS.....	34

1. RESUMEN

La orquiectomía es un procedimiento común en la práctica equina, que genera dolor y por lo tanto estrés. El objetivo de este estudio fue comparar los cambios en variables hematológicas y bioquímicas sanguíneas indicadoras de estrés, en potros sometidos a orquiectomía con analgesia preventiva en base a tramadol o fenilbutazona. Las variables evaluadas fueron: concentración sérica de cortisol, concentración plasmática de glucosa, relación neutrófilos:linfocitos (N:L) y recuento de eosinófilos.

El estudio se realizó en 20 equinos mestizos, de 2 a 9 años de edad y de 380 a 420 kg de peso vivo. Se conformaron aleatoriamente 2 grupos de 10 equinos cada uno, estos fueron el grupo tramadol (3 mg/kg) y el grupo fenilbutazona (3 mg/kg). De cada caballo se obtuvieron un total de 6 muestras sanguíneas, una prequirúrgica 15 min antes de la sedación y 5 en el periodo postquirúrgico, la primera se obtuvo cuando el equino se reincorporó sobre sus cuatro extremidades en la sala de recuperación y a partir de ese momento se obtuvieron muestras seriadas a las 4, 8, 12 y 24 hrs.

Los valores totales promedios de las concentraciones de cortisol, glucosa y relación N:L, fueron significativamente mayores ($P < 0,05$) en el grupo tramadol, en comparación con el grupo fenilbutazona. Las concentraciones de cortisol y glucosa presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$), entre los grupos y también dentro del grupo tramadol, en cambio estas variables se mantuvieron constantes dentro del grupo fenilbutazona. La relación N:L y recuento de eosinófilos presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) entre los grupos tramadol y fenilbutazona, sin embargo dentro de ambos grupos se mantuvieron constantes. Se presentó una correlación negativa entre las variables relación N:L y recuento de eosinófilos ($r = -0,5$).

A partir de los resultados obtenidos en este estudio se puede concluir que los equinos tratados con tramadol se encontraron más estresados, lo que sugiere que experimentaron mayor dolor, ya que las variables hematológicas y bioquímicas sanguíneas indicadoras de estrés, en el grupo tramadol no se mantuvieron constantes a diferencia del grupo fenilbutazona.

Palabras claves: orquiectomía, equinos, estrés, tramadol.

2. SUMMARY

STRESS INDICATORS IN HORSES SUBMITTED TO ORCHIECTOMY TREATED WITH PREVENTIVE ANALGESIA BASED ON TRAMADOL OR PHENYLBUTAZONE.

Orchiectomy is a common procedure in equine practice, which causes pain and stress. The objective of this study was to compare changes in hematological and biochemical blood variables indicative of post surgical stress, in stallions submitted to orchiectomy, with preventive analgesia based on tramadol or phenylbutazone. The variables used were: serum cortisol, plasma glucose, neutrophil:lymphocytes (N:L) relation and eosinophil count.

Twenty crossbreed stallions between 2-9 years of age and 380-420 kilograms of body weight were used in this study. Two groups were formed: 1.- group tramadol and 2.- group phenylbutazone, with 10 horses in each group. A total of 6 blood samples were obtained from each horse. The first preoperative sample was obtained 15 minutes before sedation and the first postoperative sample was obtained when the horse was reinstated in the recovery room; thereafter, samples were taken at 4, 8, 12 and 24 hrs.

The total average values of the cortisol and glucose concentrations and N:L relation, were significantly higher ($P < 0,05$) in the tramadol group, compared to the phenylbutazone group. The concentrations of cortisol and glucose presented significant differences ($P < 0,05$) between groups and within the tramadol group, but these variables remained constant in the phenylbutazone group. The N:L and eosinophil count presented significant differences ($P < 0,05$) between groups, but within groups remained constant. The only variables that showed a significant negative correlation were the N:L and the eosinophil count ($r = -0,5$).

The results obtained in this study showed that blood hematological and biochemical variables indicative of stress in the tramadol group did not remain constant, unlike the phenylbutazone group, therefore horses treated with tramadol were more stressed, suggesting that they experienced more pain.

Keywords: orchiectomy, horses, stress, tramadol.

3. INTRODUCCIÓN

La domesticación de diferentes especies animales, y su especialización productiva ha generado cambios en estas (Johnson y Vanjonack 1976). En el caso específico de los equinos estos fueron domesticados como animales de carga, de tiro y de trabajo para la agricultura en tiempos de paz y en época de guerra como medio de transporte en la conquista de nuevas tierras, actualmente su función más difundida a nivel mundial es la deportiva, a través de la cual pasan a ser animales de compañía y entretención (Stuff 1996). Este proceso de domesticación ha expuesto a los equinos a situaciones que pueden ir en desmedro de su bienestar, lo que les genera estrés (Waran 1997).

El bienestar animal es un asunto de interés público, complejo y multifacético, en el cual se incluyen diferentes aspectos de índole científico, ético-valórico, económico-comercial y político (Bahamonde 2004). El término “bienestar animal” se refiere al estado de un individuo en relación a sus intentos por adaptarse o sobrellevar su ambiente o entorno y que puede ser medido (Broom 1988), por lo tanto, el bienestar es una característica propia del animal y no algo que se le entregue (Broom 1991). La creciente preocupación por el bienestar animal ha llevado a una mayor conciencia sobre la necesidad de controlar y reducir el estrés de estos, cuando son sometidos a diferentes manejos, lo cual da paso a la medición y análisis de indicadores de estrés para lo cual se necesitan métodos válidos y fiables (Queyras y Carosi 2004).

El bienestar animal en parte hace referencia al estado psicológico del individuo en relación a su ambiente externo e interno. Debido a que no se puede medir de manera directa los sentimientos o el estado anímico de los animales, es necesario inferirlo desde indicadores evaluables como conducta, salud y biología, los cuales derivan en su mayoría del estudio de la fisiología y fisiopatología del estrés (Mormede y col 2007).

Los primeros conceptos y definiciones de estrés fueron dados por Walter Cannon en 1914 y Hans Selye en 1936, ellos descubrieron que los diversos estímulos perjudiciales (estresores) tales como el dolor, hambre, sed o agentes nocivos causan cambios fisiológicos en el animal que pueden llevar al individuo a un estado patológico (von Borell 2001), por tanto el estrés puede ser definido según Caballero y Sumano (1993) como el producto de las reacciones biológicas y psicológicas, que se desencadenan en un organismo cuando se enfrenta de forma brusca a un agente nocivo, cualquiera que sea su naturaleza. Para la biología, el estrés es una respuesta inespecífica del organismo ante cualquier demanda externa, cuando los animales se encuentran sujetos a condiciones ambientales adversas que interfieren con su bienestar. Es así como postulan que el estrés muestra una relación positiva, entre la agresividad del medio externo y la magnitud de la respuesta orgánica del individuo.

Según von Borell (2001) el dolor es un agente estresante, y como tal va en desmedro del bienestar animal. La organización británica, Farm Animal Welfare Council (1993), con el

objetivo de salvaguardar el bienestar de los animales, desarrolló las cinco libertades que se les otorgan a los animales, estas son estar: 1) libres de sed y hambre, 2) libres de malestar o incomodidad, 3) libres de dolor, injurias y enfermedades, 4) libres para expresar su comportamiento natural y 5) libres de miedo y distres.

El dolor, específicamente el dolor post-quirúrgico es considerado una consecuencia no deseada de las cirugías, por esto se investigan y desarrollan constantemente técnicas quirúrgicas y terapias analgésicas, que ayuden a disminuirlo (Uherek 2001). Investigaciones científicas han demostrado que los animales y en particular los mamíferos, poseen una estructura cerebral que les permite sentir miedo y dolor, lo cual lleva a la conclusión de que los animales pueden sentir dolor al igual que los seres humanos (Chambers y Grandin 2001).

En los últimos años han habido grandes avances en el reconocimiento del dolor y tratamiento de éste, tanto en seres humanos como en animales, lo que ha ayudado a demostrar las ventajas de manejar el dolor post-operatorio en la recuperación del estado de salud y bienestar de los pacientes. Las respuestas al dolor son parte de una respuesta de estrés neurohumoral general a la cirugía, donde también participan la ansiedad, pérdida de líquidos, hemorragias, endotoxemias e infecciones (Sellon 2006).

El estrés se encuentra mediado por el sistema nervioso, específicamente por el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal y el sistema nervioso autónomo, lo cual explica su repercusión sobre los sistemas cardiovascular, respiratorio y hormonal, lo que genera pérdida de la homeostasis del individuo (Tresguerres 1993).

Los equinos son una especie muy sensible al estrés, por lo cual el dolor post-quirúrgico genera respuestas agudas, por esto la optimización de la analgesia pre-quirúrgica y post-quirúrgica es de gran importancia, ya que disminuye las respuestas hormonales al estrés, mejora la cicatrización de heridas y la función pulmonar, disminuye la hipercoagulabilidad, aumenta la calidad y la velocidad de la recuperación (Sellon 2006).

3.1 ESTRÉS Y DOLOR

No todos los individuos reaccionan de igual forma frente a un mismo estímulo estresante, puesto que las respuestas están gobernadas por interacciones complejas de factores genéticos y experiencias anteriores (Zavy y col 1992). Todas las respuestas de estrés tienen un propósito común, la mitigación de los efectos que pueden generar los diversos estímulos perjudiciales (Zigman y col 2003). Estas respuestas adaptativas del animal al estrés involucran la integración de múltiples hormonas y mecanismos que interactúan y afectan directamente el estado físico del animal, como también su salud y bienestar general (Eckert y col 1997). Según Evans (1985) estas respuestas de adaptación, generadas por gran variedad de estímulos estresantes, son un intento del individuo por mantener su homeostasis y su óptimo rendimiento, como también de asegurar la supervivencia ante una situación extrema. La homeostasis se ve permanentemente desafiada por los cambios en el ambiente del individuo, por lo cual éste debe reaccionar y ajustarse continuamente dentro de un rango determinado para asegurar su sobrevivencia (Lee 1965).

El estrés como mecanismo fisiológico, no es intrínsecamente adverso para el individuo que lo experimenta (Moberg 2000), por lo cual el estrés se puede clasificar como: eustrés, el cual involucra estímulos que en sí no son dañinos para el animal, al contrario ya que generan respuestas en el individuo que son beneficiosas para la mantención de su bienestar y de su estado de homeostasis y por otra parte está el distrés, respuesta que de por sí tampoco es dañina para el organismo, pero que evoca respuestas que interfieren con el bienestar del animal, ya que pueden generar cambios patológicos. El estado de distrés resulta generalmente de un periodo prolongado de estrés, sin embargo existen estímulos estresantes capaces de iniciar directamente un estado de distrés, particularmente aquellos relacionados con incomodidad o dolor (Breazile 1987).

El dolor según la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP) se define como “una experiencia sensorial y emocional desagradable asociado a un daño actual o potencial de los tejidos o explicada en términos de dicho daño” (Anon 1983). De este modo, el dolor se define como un elemento que produce un desagrado de intensidad variable. Este nivel de desagrado depende de la capacidad individual para tolerar o asumir el dolor. Esta mayor o menor capacidad esta determinada por las características físicas y vivenciales del individuo que lo padece (Guerrero y col 2002).

El dolor genera una serie de cambios tanto fisiológicos como conductuales, con el objetivo de evitar el daño, reducir la probabilidad de que se repita y promover la recuperación. El dolor patológico se produce cuando la intensidad es alta o la duración de la experiencia álgica es prolongada y cuando las respuestas fisiológicas y conductuales no tienen éxito en el alivio de él (Molony 1997).

En el pasado se consideraba a los animales como seres incapaces de sentir dolor. Hoy en día la evidencia científica concuerda, en que los animales sienten y anticipan el dolor a través de mecanismos similares al de los humanos y al igual que en éstos, el dolor trae sobre ellos severas consecuencias emocionales (Robertson 2002).

No existe beneficio en las experiencias dolorosas continuas, al contrario, estas van en perjuicio del proceso de recuperación completo así como del bienestar general en cualquier animal o persona (Mathews 2004). Es tal el impacto que tiene el dolor sobre la salud y bienestar animal, que ha llegado a ser considerado como el quinto signo vital después del pulso, frecuencia respiratoria, presión sanguínea y temperatura (Muir y col 2004).

El dolor se puede clasificar de diferentes formas. Según la localización anatómica, se clasifica en somático, el cual puede ser superficial o profundo, y visceral. El dolor superficial resulta de la estimulación de nociceptores en la piel y puede ser subdividido en: dolor primario o rápido, causado por la estimulación de nociceptores cutáneos con fibras mielinizadas pequeñas ($A\delta$), y dolor secundario o lento, producido por estimulación de receptores con fibras no mielinizadas (C). El dolor profundo se produce en estructuras subyacentes como músculos, tendones, articulaciones, periostio y ligamentos. Por último el dolor visceral surge

desde receptores en la pared visceral, sensibles a cambios en su forma y tensión, y es pobremente localizado pudiendo ser referido a partes distantes del cuerpo (Anil y col 2002).

Otra forma de clasificar dolor es según su duración, en agudo o crónico. El dolor agudo dura hasta que el proceso de sanación del daño termina, es generalmente acompañado por cambios autonómicos y responde al tratamiento analgésico. El dolor crónico puede no tener una causa determinada y existen varias definiciones para éste, tales como: dolor de una duración mayor a seis meses; dolor que persiste más allá del tiempo esperado de curación de una enfermedad o injuria; dolor que involucra una alteración en el sistema nervioso y que es capaz de mantenerse en el tiempo, sin repetición de los factores causales iniciales. Los tipos de dolor crónico son: aquel con una causa identificada, neurogénico o neuropático (asociado con una lesión primaria en el sistema nervioso) e idiopático o sin causa establecida (no está relacionado a una estructura anatómica o condición neuropática) (Anil y col 2002).

3.2 EVALUACIÓN DEL DOLOR EN EQUINOS

La evaluación del dolor y su severidad es de especial importancia para la toma de decisiones clínicas y para mantener un adecuado estado de bienestar del animal. La evaluación directa de una experiencia subjetiva no es posible, por lo que la evaluación de dolor se realiza apoyándose en indicadores conductuales y fisiológicos entregando así evidencia indirecta del estado mental del animal (Molony y Kent 1997).

Los indicadores de presencia y severidad de dolor pueden llegar a tener gran importancia en el monitoreo del progreso de una condición clínica, evaluación de la eficacia de un protocolo analgésico y toma de decisiones por parte del médico veterinario. Los beneficios de una adecuada interpretación de la presencia y severidad del dolor permiten tomar medidas adecuadas y de manera temprana para disminuir el estrés del paciente. Algunos de los beneficios son: disminución de la pérdida de peso y de riesgo de infección, mejorar la cicatrización, acortar los tiempos de hospitalización y disminuir los costos (Sellon 2006).

En el diagnóstico de dolor en los animales es importante considerar la especie, raza y diferencias individuales en su respuesta, ya que en contraste con los pacientes humanos, quienes pueden describir el dolor que están sintiendo, los animales comunican su percepción del dolor a través de patrones conductuales, variables bioquímicas y cambios fisiológicos medibles. Una identificación más objetiva de la percepción del dolor en los animales, involucra entonces la evaluación de los sistemas nervioso, cardiopulmonar, endocrino, y metabólico. Dentro de los cambios metabólicos que genera el dolor destaca el aumento en las concentraciones de adrenalina, noradrenalina, cortisol y hormona adrenocorticotropina (ACTH), relacionadas con estrés por dolor (Short 1998).

3.3 FISILOGIA DEL ESTRÉS

La respuesta a factores estresantes requiere una progresión de eventos que comienzan con la detección de la amenaza y envío de señales, generando la activación de mecanismos neurofisiológicos, como un esfuerzo biológico para resistir y prevenir un daño mayor. Los receptores sensoriales no sólo reciben la información, sino que también la transforman en señales nerviosas para los centros cognitivos y no-cognitivos, o ambos, del sistema nervioso, para generar una respuesta coordinada frente al desafío. El sistema nervioso central, sistema endocrino y sistema inmune interactúan, respondiendo a estímulos estresantes de una manera coordinada e influenciando el comportamiento de un animal. La presencia de hormonas, neurotransmisores y receptores, comunes a los tres sistemas confirma que hay comunicación entre estos (von Borell 2001).

La respuesta de estrés comienza con el envío de una señal al cerebro, como una actividad neuronal la cual es integrada en el hipotálamo, el cual produce una serie de hormonas que regulan la función de la hipófisis anterior, la cual secreta ACTH. Se conocen dos hormonas que están relacionadas con la secreción de ACTH en equinos, la hormona liberadora de corticotropina (CRH) y vasopresina de arginina (AVP) (Evans y col 1993). La CRH actúa en el cerebro alterando el comportamiento, incrementando la ansiedad y deprimiendo el apetito, cuando la secreción de CRH es elevada, el animal se muestra siempre en alerta. La AVP tiene poca influencia sobre el comportamiento, su efecto se da principalmente en riñón y en el mantenimiento de la osmolaridad en plasma, motivo por el cual se le conoce también como la hormona antidiurética. Una vez que CRH y AVP estimulan la secreción de ACTH al torrente sanguíneo, se estimula la glándula adrenal liberando cortisol. El aumento de estas hormonas genera un circuito de retroalimentación negativo inhibiendo una posterior secreción de AVP, CRH y ACTH desde hipotálamo e hipófisis anterior, respectivamente (Alexander y col 1991). Es por ello que para mantener la homeostasis durante condiciones estresantes, se modifica la actividad del sistema nervioso autónomo y la secreción hormonal, la cual está regulada por mecanismos de feedback y feedforward (Brandenberger y col 1982, Hoffman-Goetz y Pedersen 1994). Dichos cambios son los que permiten al organismo conservar el equilibrio de sus funciones y mecanismos, para lo cual indudablemente las respuestas endocrinas constituyen un componente integral de la reacción general al estrés (Evans y col 1993).

La presentación de estrés va a llevar a cambios metabólicos, endocrinos, inmunes, hematológicos y conductuales que pueden llevar a hiperglicemia, lipólisis, catabolismo proteico, pérdida de peso, retardo en la recuperación de heridas y disminución por ende del estado de bienestar del equino (Tabacchi y Mastrocinque 2004, Sellon 2006). Además durante el estrés, la atención es aumentada y el cerebro se concentra en la amenaza percibida, el gasto cardíaco y la frecuencia respiratoria se aceleran, el catabolismo aumenta y el flujo sanguíneo es redireccionado para proveer mayor perfusión y energía al cerebro, corazón y músculos (Tsigos y Chrousos 2002). Se describen una variedad de indicadores que pueden ser utilizados para determinar el estrés en los animales que son sometidos a diferentes manejos, entre ellos los que generan dolor. Entre los indicadores más usados se encuentran: cambios en el

comportamiento, variación en constantes y frecuencias fisiológicas y cambios en variables sanguíneas (cortisol, lactato, catecolaminas, glucosa y hemograma) (Broom 2003).

3.3.1 Cortisol

Casi cualquier tipo de amenaza a la homeostasis o respuesta de estrés va a causar que las concentraciones plasmáticas de glucocorticoides tiendan a aumentar. Las concentraciones aumentadas han sido tradicionalmente atribuidas a la función fisiológica de realzar la resistencia del organismo al estrés (Munck y col 1984). Cortisol es la hormona adreno-cortical mayormente liberada en respuesta a la liberación de ACTH por la hipófisis (Shaw y Tume 1992).

Se ha determinado en equinos, en ausencia de intervención humana, la presencia de ritmo circadiano en las concentraciones de cortisol, con un aumento temprano en la mañana (entre 06:00 y 09:00 horas) y una baja en la tarde-temprana (19:00 horas) y tarde-tarde (23:00 horas). Este ritmo puede ser alterado con la menor perturbación por ejemplo al remover al equino de su ambiente normal, lo que resulta en elevadas concentraciones de cortisol. Es por esto que se destaca la dificultad de determinar las concentraciones de cortisol en equinos, ya que las mediciones pueden verse afectadas por la hora y cuan relajado se encuentra el caballo al momento de tomar la muestra (Irvine y Alexander 1994).

Se ha postulado que la importancia de medir glucocorticoides como una respuesta al estrés radica en que las manifestaciones conductuales ante un agente estresor están íntimamente asociadas al incremento en las concentraciones de éstos. Esto se debe a que sus receptores se encuentran localizados en regiones específicamente involucradas con la regulación hormonal (hipotálamo e hipófisis) y particularmente en el sistema límbico que juega un papel predominante en las conductas emocionales (Caballero y Sumano 1993).

Las concentraciones de cortisol son extremadamente variables y comparaciones absolutas no deberían hacerse entre estudios, pero sí es posible determinar si procedimientos de manejo son muy poco estresantes o muy estresantes realizando mediciones antes y después de un manejo estresante en los mismos animales (Grandin 1997).

3.3.2. Glucosa

La glucosa es el producto de la digestión de los carbohidratos y es el combustible metabólico básico durante periodos de nutrición adecuada. A pesar de que existen otros energéticos importantes en el cuerpo, la glucosa tiene un significado especial debido a que, bajo la mayoría de las condiciones, es el único energético que puede consumir el sistema nervioso central. En consecuencia, mantener un aporte continuo de glucosa para el metabolismo del cerebro es de primordial importancia para el cuerpo. Uno de los principales medios a través de los cuales la glucosa se utiliza como energético es por la vía metabólica conocida como glucólisis, la cual representa una serie de pasos bioquímicos que inician la oxidación de la glucosa. La glucólisis da lugar directamente al ciclo de Krebs, que es el sitio para la oxidación completa de los compuestos energéticos y la principal vía metabólica productora de energía del cuerpo (Herdt 1999).

Las concentraciones de glucosa sanguínea dependen de una amplia variedad de factores y su concentración en cualquier momento es el resultado neto de un equilibrio entre los valores de entrada y salida de glucosa de la sangre. Es así, que todos los factores que ejercen una influencia sobre la entrada o salida se hacen importantes en la regulación de la concentración sanguínea de glucosa (Kaneko 1997).

El aumento en las concentraciones de glucosa plasmática está dado mayormente por glicogenólisis asociada con el aumento de catecolaminas y glucocorticoides los cuales son liberados por ejemplo durante el estrés del transporte, así como también bajo otros factores estresantes (Tadich y col 2005). La liberación de cortisol en situaciones de estrés resulta en una elevada concentración plasmática de glucosa a través de un aumento en la glicogenólisis hepática y gluconeogénesis junto con un aumento en el catabolismo de proteínas (Shaw y Tume 1992).

3.3.3 Hemograma: relación neutrófilos:linfocitos (N:L)

El cortisol liberado debido al estrés puede llevar a neutrofilia y linfopenia, aumentando el coeficiente N:L. El mecanismo responsable de la linfopenia involucra la marginación y redistribución de los linfocitos dentro el sistema linfático, además de una marcada y acelerada apoptosis. La neutrofilia durante una inflamación sistémica es causada por la demarginación de neutrófilos, disminución en la apoptosis de neutrófilos y la estimulación de células madres a través de factores de crecimiento (Zahorec 2001). Se ha reportado que el coeficiente N:L sería un indicador más confiable de estrés que la concentración de cortisol (Stull y Rodiek 2000).

3.3.4 Recuento eosinófilos

El aumento de los glucocorticoides endógenos tiene un efecto importante en el número circulante de células blancas, el cual es denominado "leucograma de estrés". Las causas potenciales de esto son el dolor, estrés emocional prolongado, temperatura corporal aumentada e hiperadrenocorticismos. Los glucocorticoides producen eosinopenia en todos los animales domésticos, la cual persiste mientras las concentraciones plasmáticas de glucocorticoides permanezcan elevadas. La eosinopenia se produce por que los glucocorticoides generan lisis intravascular, secuestro en hígado y bazo, disminución de la liberación desde la medula ósea y migración hacia tejidos linfoides (Jain 1993)

3.5 ANALGESIA PREVENTIVA

La causa más obvia para tratar el dolor es que este provoca sufrimiento (Robertson 2002). Adicionalmente el dolor provoca cambios sistémicos relevantes y contraproducentes, responsables de una serie de trastornos que deterioran la salud y retrasan la recuperación del paciente (Tabacchi y Mastrocinque 2004). Debido a esto, el conocimiento en cuanto a la fisiología y manejo del dolor se ha acrecentado en los últimos años (Livingston 2002).

A medida que surgen nuevos estudios de la fisiología del dolor, emergen nuevas perspectivas para su control y prevención. Entre los procedimientos utilizados para reducir o prevenir el dolor postoperatorio surgió la analgesia preventiva. De esta manera, se busca

minimizar el estado de hiperalgesia que se instala en pacientes sometidos a procedimientos quirúrgicos (Tabacchi y Mastrocinque 2004).

La analgesia preventiva consiste en la administración de analgésicos antes de que se genere el estímulo nociceptivo para prevenir o reducir el dolor. La base de la analgesia preventiva proviene de estudios realizados que demuestran que el comportamiento y la respuesta a un estímulo doloroso corto pueden ser prevenidas por la administración previa de opioides, anestésicos locales o antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) sistémicos o intratecales. Por ello surge la idea de que la misma dosis de un analgésico por la misma vía sería más efectiva cuando se administra de manera prequirúrgica (Torres y Martínez-Vázquez 2000).

La lesión tisular desencadena dos fases de estímulos nociceptivos: la primera se produce durante la lesión tisular (cirugía) y la segunda resulta de la reacción inflamatoria a la lesión tisular que se presenta durante el periodo de resolución (cicatrización). Las dos fases poseen la capacidad de inducir la facilitación central, por lo que el tratamiento preventivo debe abarcar ambas, lo que se consigue con una analgesia preventiva continua. Las terapéuticas dirigidas sólo al periodo perioperatorio no son capaces de prevenir completamente los cambios que se producen a nivel del SNC, por lo que deben ir dirigidas al periodo perioperatorio y postoperatorio de forma continua (Torres y Martínez-Vázquez 2000).

Hay que tener en cuenta que la analgesia preventiva no elimina el dolor post-operatorio, pero ayuda a prevenir la sensibilidad del sistema nervioso central y periférico durante la cirugía. Dentro de los beneficios potenciales de la analgesia preventiva se encuentran (Finkel y Schlegel 2003):

- Retraso en la aparición del dolor postquirúrgico.
- Disminución en la intensidad del dolor postquirúrgico.
- Disminución de la incidencia de complicaciones relacionadas con el dolor postquirúrgico.
- Disminución de las dosis de analgésicos utilizados en el postquirúrgico.
- Mayor velocidad de recuperación lo que disminuye los periodos de hospitalización.
- Mejora el estado de bienestar del paciente en el postoperatorio.

3.6 FÁRMACOS ANALGÉSICOS

Existe una amplia variedad de fármacos analgésicos, estrategias y terapias farmacológicas disponibles para el tratamiento y prevención el dolor en equinos, no obstante, la elección de un procedimiento particular depende básicamente de la magnitud nociceptiva presente en los distintos tipos de lesiones o durante los procedimientos quirúrgicos (Muir y Skarda 2002).

Los fármacos que se ocupan habitualmente para el manejo del dolor en equinos son: los anestésicos locales, AINEs, agonistas α_2 adrenérgicos y opioides. Estos fármacos pueden ser

utilizados individualmente para generar analgesia, sin embargo, las dosis que se tienen que administrar son elevadas, lo cual incrementa el riesgo en la presentación de efectos adversos. Por otra parte, la administración conjunta de dos o más de éstos fármacos en el periodo preoperatorio se denomina analgesia preventiva multimodal, estrategia terapéutica que permite que aquellos fármacos con distintos mecanismos de acción bloqueen de manera más efectiva las vías de transmisión del dolor maximizando el efecto analgésico y a su vez minimizando los efectos colaterales (Robertson 2006).

3.5.1 Fenilbutazona

Es un AINEs, su farmacodinamia consiste en el bloqueo no selectivo de la ciclooxigenasa 1 y 2 (COX 1 y 2). El daño tisular, como ocurre en una intervención quirúrgica, gatilla la liberación de numerosos mediadores inflamatorios, incluyendo las prostaglandinas que están implicadas en la producción del dolor inflamatorio y que activan nociceptores periféricos y los sensibilizan a la acción de otros mediadores. El metabolismo de los fosfolípidos de membrana genera ácido araquidónico, el cual, en contacto con la enzima COX, da origen a endoperóxidos cíclicos que rápidamente se convierten en prostaglandinas y tromboxanos. Los efectos de los AINEs se deben principalmente a la inhibición de la síntesis de prostaglandinas al bloquear la COX (Guerrero y col 2002). La mayoría de los AINEs utilizados en la práctica equina no son selectivos e inhiben COX-1 y COX-2. Se cree que la inhibición de COX-1 es la responsable de los efectos adversos asociados con el uso prolongado de AINEs en general y fenilbutazona en particular, tales como ulceraciones gastrointestinales, hemorragias, coagulopatías y nefropatías. Por otro lado, la inhibición de COX-2 es la principal responsable de los efectos antiinflamatorios de estos fármacos (Driessen 2007).

Las vías de administración son intramuscular, intravenosa lenta y oral. La administración intramuscular está contraindicada ya que la mayoría de las formulaciones de este fármaco son extremadamente irritantes y pueden causar una inflamación severa (Bertone y Horspool 2004), además la biodisponibilidad de fenilbutazona por vía intramuscular es menor que por vía oral, debido a la precipitación del fármaco en el tejido muscular el cual tiene un pH neutro. Su porcentaje de unión a proteínas es muy alto, del 98%, en la mayoría de las especies. Se metaboliza casi totalmente en el hígado, siendo excretado como compuesto madre en la orina con menos de un 2 % del fármaco. El índice terapéutico de la fenilbutazona es estrecho, lo que condiciona su utilización en diversas especies (Botana 2002).

En equinos, la concentración máxima de fenilbutazona en sangre se consigue 2 a 3 horas posterior a su administración por vía oral (biodisponibilidad del 70%). Con dosis muy elevadas, los sistemas enzimáticos que metabolizan el fármaco, oxidasas de función mixta, se saturan y se produce la acumulación del mismo. De esta forma, la semivida varía entre 3 y 10 horas. Un régimen comúnmente aceptado en equinos es: 4,4 mg/kg cada 12 horas, el primer día de tratamiento y para los cuatro días siguientes se recomiendan dosis de 2,2 mg/kg cada 12 horas, cada 24 horas o cada 48 horas. El índice terapéutico en caballos es bajo. La concentración terapéutica recomendada en los caballos es de 5-20 ug/ml. Al igual que otros AINEs, la fenilbutazona persiste en el equino un mayor tiempo en los líquidos extravasculares y los exudados, lo que explicaría la larga duración de su efecto farmacológico, aun con

concentraciones plasmáticas consideradas subterapéuticas (Botana 2002). Utilizada principalmente para el tratamiento de afecciones del sistema musculoesquelético, como artritis, osteítis, bursitis, luxaciones menores, enfermedad navicular (Lizárraga y Sumano 1998).

3.5.2 Tramadol

Los opioides son un grupo de drogas derivadas del opio (alcaloides naturales) o sintetizadas en laboratorios (opioides sintéticos u opiáceos). Estos tienen en común la capacidad de ligarse a los receptores de opioides internos en mayor o menor grado. Estos receptores corresponden a la clase de receptores asociados a proteína- G, existen cinco tipos de receptores opioides que son: mu (μ), kappa (κ), delta (δ), sigma (σ) y epsilon (ϵ). En cada receptor los opioides producen diferentes efectos y sólo tres de estos producen un efecto analgésico, estos son μ_1 , μ_2 y κ (Guerrero y col 2002).

El tramadol puede ser clasificado como un opioide sintético, ya que su estructura química es similar a la de la codeína. Sin embargo es un analgésico central de acción binaria, ya que posee un mecanismo analgésico opioide y otro no mediado por receptores opioides. Se utiliza en el tratamiento de dolores moderados a intensos. El tramadol también inhibe la recaptación de serotonina y noradrenalina, ambos mecanismos de acción son sinérgicos y se conoce como mecanismo analgésico dual. El tramadol, para ejercer su acción opioide, se liga escasamente a receptores μ_1 y débilmente a receptores δ y κ . Su unión a receptores μ_1 es aproximadamente 600 veces menor que la de morfina, esto le confiere la particularidad de no generar adicción (Guerrero y col 2002).

Tramadol se puede administrar por vía oral, rectal, intramuscular e intravenosa. Después de su administración oral, el fármaco se absorbe rápidamente con una biodisponibilidad inicial del 68% que llega al 100% después de varias dosis. Este aumento de la biodisponibilidad se debe a que el tramadol experimenta una metabolización hepática de primer paso saturable. Las concentraciones máximas de metabolitos activos de tramadol se obtienen a las 3 horas después de una dosis oral, aunque el fármaco inicial se detecta 15 a 45 minutos posterior a su aplicación y alcanza su máximo a las 2 horas, tiempo que coincide con su máximo efecto analgésico. Su unión a proteínas del plasma es pequeña alrededor de un 20%. Este fármaco atraviesa la barrera hematoencefálica, la placentaria y un pequeño porcentaje (0,1%) se excreta por la leche materna. Tanto el fármaco inicial como sus metabolitos son eliminados principalmente por la orina (90%), siendo el resto excretado por las heces (Dayer y col 1997). La vida media del tramadol después de la administración de 2 mg/kg por vía endovenosa en equinos, es de 82 minutos, similar a lo reportado en caninos, pero menor a las 5,5 horas reportadas en humanos (Shilo y col 2007).

Indicado en cuadros que generen dolor moderado. Sus reacciones adversas más frecuentes en humanos son náuseas y emesis, otras reacciones son somnolencia, mareos, boca seca y cefalea (Guerrero y col 2002). En el caso de los equinos son estimulación simpática, excitación a nivel del sistema nervioso central y estimulante de la locomoción, no provoca depresión respiratoria, constipación ni sedación, a diferencia de los opiáceos (Natalini y Robinson 2006).

3.7 HIPÓTESIS

La administración preoperatoria de tramadol o fenilbutazona mantiene constantes los constituyentes bioquímicos sanguíneos y hematológicos indicadores de estrés en potros sometidos a orquiectomía.

3.8 OBJETIVOS

3.8.1 Objetivo general

- ♣ Comparar cambios en variables hematológicas y bioquímicas sanguíneas, indicadoras de estrés, en potros sometidos a orquiectomía con analgesia preventiva en base a tramadol o fenilbutazona.

3.8.2 Objetivos específicos

- ♣ Determinar las variaciones en la concentración sérica de cortisol, concentración plasmática de glucosa, relación neutrófilos:linfocitos y recuento de eosinófilos, previo y posterior a la orquiectomía utilizando analgesia preventiva en base a tramadol o fenilbutazona.
- ♣ Comparar la concentración sérica de cortisol, concentración plasmática de glucosa, relación neutrófilos:linfocitos y recuento de eosinófilos, previo y posterior a la orquiectomía, entre los potros tratados con analgesia preventiva en base a tramadol y fenilbutazona.
- ♣ Relacionar los cambios entre las concentraciones de cortisol, glucosa, relación neutrófilos:linfocitos y recuento de eosinófilos, previo y posterior a la administración de tramadol o fenilbutazona en potros sometidos a orquiectomía.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1 MATERIAL

4.1.1 Material biológico

El presente estudio se realizó en 20 equinos de la XIV Región de los Ríos. La edad y peso de los animales fluctuó entre 2 a 9 años de edad y de 380 a 420 kg de peso vivo, respectivamente. Todos los equinos sometidos a orquiectomía fueron mestizos.

4.1.2 Equipos

Anestesia: jeringas, catéteres, traqueotubos, máquina de anestesia para animales mayores SurgiVet LDS 3000[®], equipada con vaporizador para isoflurano SurgiVet serie 100[®].

Análisis de muestras: micropipeta Eppendorf[®], microtubos Eppendorf[®], microcentrifuga SIGMA modelo 201M[®], microscopio binocular Carl Zein[®], Autoanalizador hematológico Sysmex modelo KX-21N[®], Wienerlab modelo Metrolab 2300[®].

4.1.3 Material farmacológico

- ♣ Diazepam¹
- ♣ Fenilbutazona²
- ♣ Isoflurano³
- ♣ Ketamina⁴
- ♣ Tramadol⁵
- ♣ Xilacina⁶

4.1.4 Material quirúrgico

- ♣ Mango de bisturi n° 4
- ♣ Hoja de bisturi n°22
- ♣ Tijeras de tejido y material
- ♣ Pinzas hemostáticas
- ♣ Emasculador Hauptner[®]

4.1.5 Material muestreo

- ♣ Jeringa 10 ml

¹ Diazepam, ampolla 2 ml, elaborado por laboratorio Biosano S.A. Santiago, Chile.

² Equis 20%, frasco de 100 ml, elaborado por Drag Pharma S.A. Santiago, Chile.

³ Isoflurano USP, frasco de 100 ml elaborado por Baxter Helathcare Corporation Puerto Rico, distribuido por Baxter Chile.

⁴ Ketamina 10%, 50 ml, elaborado por laboratorio Troy, Australia, distribuido por Agroveter S.A. Santiago, Chile.

⁵ Tramadol clorhidrato, ampolla de 2 ml, elaborado por laboratorio Biosano S.A. Santiago, Chile.

⁶ Xylavet 2%, frasco de 25 ml, elaborado por Alfasan Internacional B.V. Holanda, distribuido por Agroland Santiago, Chile.

- ♣ Aguja 21 G
- ♣ Tres tubos para muestra sanguínea, uno sin anticoagulante y dos con anticoagulante, ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) y fluoruro de sodio.

4.2 MÉTODOS

Este estudio se realizó por medio del proyecto DID (S-2008-09) y conto con la aprobación de la comisión de Uso de Animales en Investigación de la UACH.

4.2.1 Recepción y preparación de los equinos

Cada equino, previamente inscrito en el programa, fue recepcionado en las dependencias del Hospital Clínico Veterinario de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Austral de Chile. El ingreso de cada uno de los animales al Hospital Veterinario se realizó 24 horas antes del procedimiento quirúrgico con el fin de efectuar el examen clínico general, la evaluación pre-anestésica y para obtener un registro conductual de cada potro. Posterior a estas evaluaciones ingresaron al programa de orquiectomía sólo aquellos equinos que se encontraron en una categoría de riesgo anestésico de I ó II, según la Sociedad de Anestesiólogos Americanos.

Todos los equinos fueron alojados en una pesebrera individual con cama de viruta de madera, en donde se les ofreció heno de alfalfa y agua de bebida. Previo a la orquiectomía los animales estuvieron en ayuno de alimento sólido durante 12 horas y el agua se les retiró 2 horas antes de la cirugía.

Previo a la cirugía se realizó tricotomía en el tercio medio del surco de la vena yugular, para la cateterización endovenosa. Posteriormente los equinos eran trasladados a la sala de anestesia donde recibieron la premedicación e inducción anestésica.

4.2.2 Procedimiento anestésico y quirúrgico

En la sala de anestesia del Hospital Veterinario fueron premedicados todos los equinos mediante la administración de xilacina en dosis de 0,8 mg/kg por vía endovenosa, en el mismo lugar se realizó la inducción anestésica la cual se obtuvo mediante la administración de ketamina y diazepam en dosis de 2,2 mg/kg y 0,1 mg/kg respectivamente, por vía endovenosa. Para la mantención del plano anestésico se administró una mezcla de oxígeno (10 ml/kg/min) y 3% de isoflurano en 100% de oxígeno, a través de un traqueo tubo conectado a una máquina de anestesia inhalatoria.

Cada una de las orquiectomías se llevó a cabo en el quirófano de animales mayores de Hospital Clínico Veterinario. Todos los equinos fueron operados mediante técnica abierta descrita por Green (2001).

4.2.2 Grupos experimentales

La terapia analgésica preoperatoria se administró 5 minutos antes de iniciar el procedimiento quirúrgico. Se conformaron 2 grupos experimentales de 10 caballos cada uno, asignados aleatoriamente, los grupos fueron:

Grupo tramadol: conformado por 10 equinos de raza mestizo y que tenían en promedio 5 años de edad, a los cuales se les administró una dosis preoperatoria de tramadol de 3 mg/kg por vía endovenosa.

Grupo fenilbutazona: conformado por 10 equinos de raza mestizo y que tenían en promedio 4 años de edad a los cuales se les administró una dosis preoperatoria de fenilbutazona de 3 mg/kg por vía endovenosa.

4.2.4 Obtención y manejo de muestras de sangre

Se obtuvieron un total de 6 muestras de sangre por potro, de las cuales 1 fue prequirúrgica y 5 postquirúrgicas. Los tiempos de obtención de las muestras fueron:

- Tiempo pre 15 min: primera muestra prequirúrgica se obtuvo 15 min antes de la cirugía.
- Tiempo recuperación: primera muestra postquirúrgica se obtuvo una vez terminada la orquiectomía cuando el equino se ponía de pie.
- Tiempo post 4 hrs: segunda muestra postquirúrgica obtenida 4 horas después de la muestra del tiempo recuperación.
- Tiempo post 8 hrs: tercera muestra postquirúrgica.
- Tiempo post 12 hrs: cuarta muestra postquirúrgica.
- Tiempo post 24 hrs: quinta muestra postquirúrgica.

La obtención de las muestras se realizó por venopunción yugular, en cada toma de muestra se recolectaron 10 ml de sangre. La sangre destinada para la medición de cortisol se depositó en tubos sin anticoagulante, las muestras para evaluar glucosa en tubos con fluoruro de sodio y las muestras para hematológicas fueron depositadas en tubos con EDTA.

4.2.5 Métodos analíticos utilizados para analizar las variables bioquímicas sanguíneas y hematológicas indicadoras de dolor y estrés.

Las variables bioquímicas sanguíneas y hematológicas que se analizaron para la evaluación de dolor y estrés postquirúrgico fueron:

Cortisol sérico ($\mu\text{g/dL}$): se determinó mediante radioinmunoensayo en el laboratorio de Reproducción Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Concepción.

Glucosa (mmol/L): la concentración plasmática de glucosa se determinó en un autoanalizador Cobas Miras Plus en muestras de plasma, mediante el método enzimático calorimétrico GOD-PAP.

Relación neutrófilos:linfocitos y recuento de eosinófilos (cel/ μ L): se realizó el recuento de leucocitos en un autoanalizador hematológico Sysmex KX-21N[®] y el recuento diferencial celular manualmente en un frotis sanguíneo teñido mediante tinción Corzap.

4.2.7 Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron ingresados en una hoja de cálculo Excel 2003 de Microsoft Office[®], para luego analizarlos con el programa STATISTIX 8.0[®]. Se realizó un análisis descriptivo (promedio, desviación estándar, error estándar, mediana y cuartiles), normalidad (Shapiro-Wilk) y homocedasticidad (prueba de Bartlett's). Los tratamientos fueron contrastados mediante la Prueba de "t" de Student o Wilcoxon para los resultados no paramétricos. Para contrastar las variaciones entre muestreos se realizó un ANDEVA para muestras repetidas. La determinación de correlaciones entre las variables para cada grupo se realizó mediante el análisis de Spearman. El valor de significancia se fijó en P menor a 0,05.

5. RESULTADOS

Las variables relacionadas con estrés y dolor post-quirúrgico determinadas en este estudio fueron, recuento de eosinófilos, la relación de neutrófilos:linfocitos y las concentraciones de cortisol sérico y glucosa plasmática.

En general, en el grupo tramadol se estableció que la relación neutrófilos:linfocitos y las concentraciones de glucosa plasmática y cortisol sérico, fueron significativamente mayores al compararlo con el grupo fenilbutazona ($P < 0,05$), como se detalla en el cuadro 1. Para el caso, del recuento de eosinófilo, éste no presentó diferencias significativas entre grupos ($P > 0,05$).

Cuadro 1. Promedio total de todos los tiempos de muestreo \pm EE de las variables sanguíneas y hematológicas indicadoras de estrés para el grupo tramadol (n=10) y fenilbutazona (n=10), en equinos sometidos a orquiectomía.

	Grupo Tramadol	Grupo Fenilbutazona	P
Cortisol ($\mu\text{g/dL}$)	$7,6 \pm 0,6$	$5,2 \pm 0,3$	0,0019*
Glucosa (mmol/L)	$4,9 \pm 0,2$	$4,0 \pm 0,1$	0,0000
Rel. N:L	$4,1 \pm 0,3$	$2,6 \pm 0,2$	0,0001*
Rec. eosinófilos (cel/ μL)	$183,0 \pm 28,5$	$226,2 \pm 27,5$	0,2293

*Test Wilcoxon

5.1 CORTISOL

Las concentraciones basales de cortisol fueron semejantes entre los grupos ($P>0,05$), con valores para el grupo tramadol de $6,5 \pm 1,0 \mu\text{g/dL}$ y para el grupo fenilbutazona de $4,6 \pm 0,4 \mu\text{g/dL}$. Al comparar las concentraciones de cortisol entre grupos se observó en el tiempo post 4 hrs, que el grupo tramadol presentó un valor significativamente superior al del grupo fenilbutazona ($P<0,05$), como se muestra en la figura 1.

El grupo fenilbutazona durante todos los tiempos de muestreo presentó concentraciones de cortisol constantes ($P>0,05$), además de encontrarse dentro del rango de referencia establecido para la especie. Por su parte, el grupo tramadol presentó un incremento significativo ($P<0,05$) en las concentraciones de cortisol, en los tiempos recuperación y post 4 hrs con respecto al valor basal. Adicionalmente, el grupo tramadol presentó una disminución de la concentración de cortisol sérico en el tiempo post 24 hrs al compararlo con el tiempo basal ($P<0,05$). Por último, el grupo tramadol presentó valores por sobre el rango de referencia en los tiempos recuperación y post 4 hrs (Figura 1).

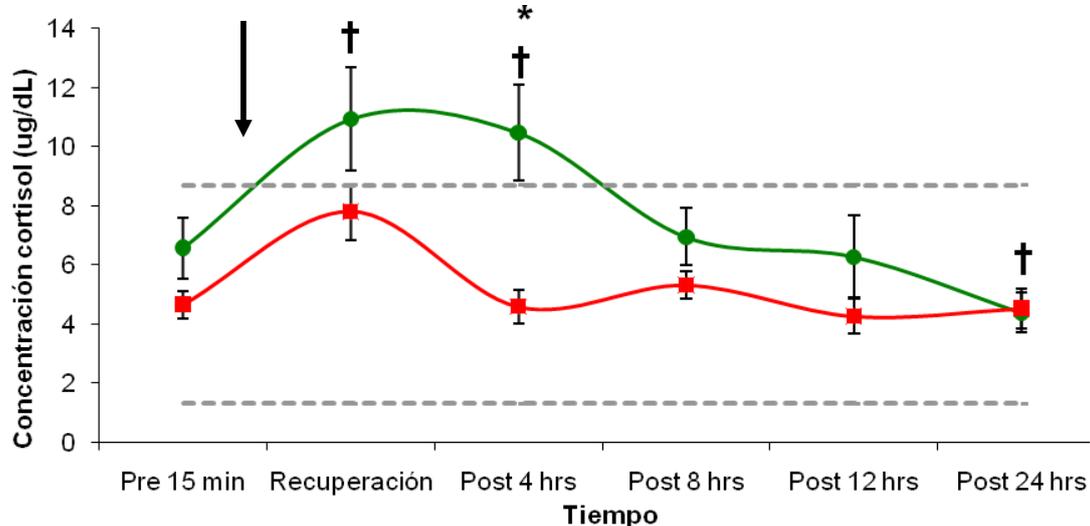


Figura 1. Variación de la concentración sérica de cortisol (promedio \pm EE) durante 24 horas en equinos sometidos a orquiectomía y tratados con analgesia preventiva en base a tramadol (-●-, $n=10$) o fenilbutazona (-■-, $n=10$).

* Diferencia significativa entre grupos $P<0,05$.

† Diferencia significativa dentro del grupo tramadol, al compararlo con el valor basal (tiempo pre 15 min.) $P<0,05$.

↓ Indica orquiectomía.

5.2 GLUCOSA

Las concentraciones plasmáticas de glucosa basales fueron semejantes entre los grupos ($P>0,05$), con valores para el grupo tramadol de $4,0\pm 0,3$ mmol/L y para el grupo fenilbutazona de $3,8\pm 0,2$ mmol/L. En el periodo de recuperación las concentraciones de glucosa en los dos grupos fueron similares ($P>0,05$). Posteriormente, desde el tiempo post 4 hrs hasta el tiempo post 24 hrs el grupo tramadol presentó concentraciones de glucosa significativamente superiores a las del grupo fenilbutazona ($P<0,05$), como se observa en la figura 2.

El grupo fenilbutazona presentó concentraciones de glucosa constantes ($P>0,05$) junto con encontrarse dentro del rango de referencia establecido para la especie. Por su parte el grupo tramadol presentó un incremento significativo ($P<0,05$) en las concentraciones de glucosa en los tiempos post 8 hrs y post 24 hrs al compararlo con el tiempo basal, adicionalmente el grupo tramadol presentó valores por sobre el rango de referencia desde el tiempo post 8 hrs hasta el tiempo 24 hrs (Figura 2).

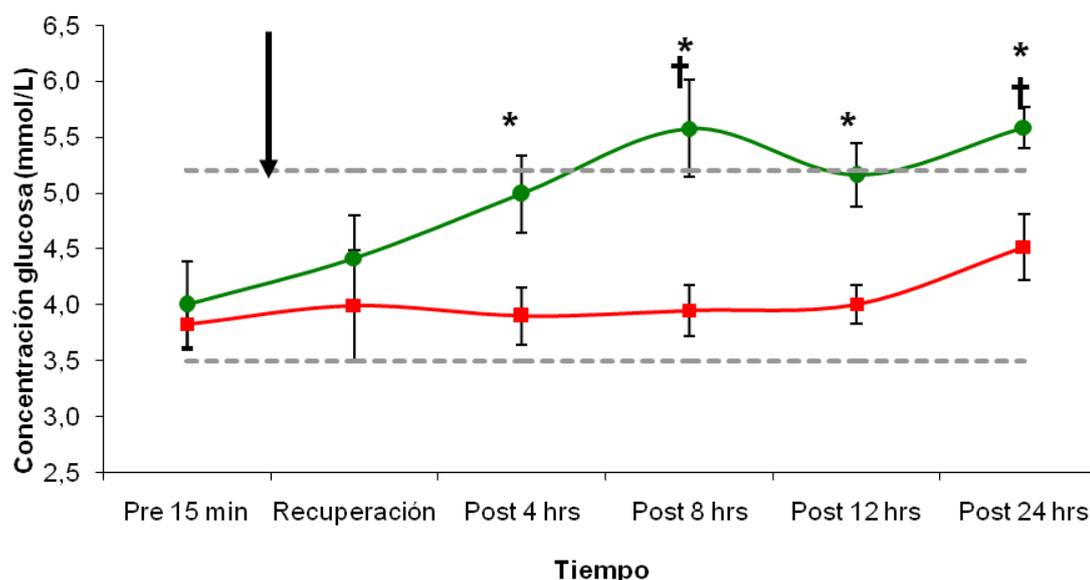


Figura 2. Variación de la concentración plasmática de glucosa (promedio \pm EE) durante 24 horas en equinos sometidos a orquiectomía y tratados con analgesia preventiva en base a tramadol (-●-, n=10) o fenilbutazona (-■-, n=10).

* Diferencia significativa entre grupos.

† Diferencia significativa dentro del grupo tramadol, al compararlo con el valor basal (tiempo pre 15 min.).

↓ Indica orquiectomía.

5.3 RELACION NEUTRÓFILO:LINFOCITOS (N:L)

En el tiempo pre 15 min los grupos tramadol y fenilbutazona presentaron una relación N:L similares ($P>0,05$), con valores de $2,6\pm 0,3$ y $1,7\pm 0,2$ respectivamente. Al comparar la relación N:L en los tiempos post 4 hrs y post 8 hrs se estableció que el grupo tramadol presentó valores significativamente superiores con respecto al grupo fenilbutazona ($P<0,05$), como se muestra en la figura 3.

Por otra parte, ambos grupos presentaron valores por sobre el rango de referencia, en el grupo tramadol este aumento estuvo presente desde el tiempo recuperación hasta el tiempo post 24 hrs, en cambio para el grupo fenilbutazona sus valores estuvieron por sobre el rango de referencia desde el tiempo post 4 hrs hasta el post 12 hrs (Figura 3).

Al comparar las variaciones de la relación N:L dentro de cada grupo se estableció que sus valores se mantuvieron constantes en el tiempo ($P>0,05$) para ambos grupos (Figura 3)

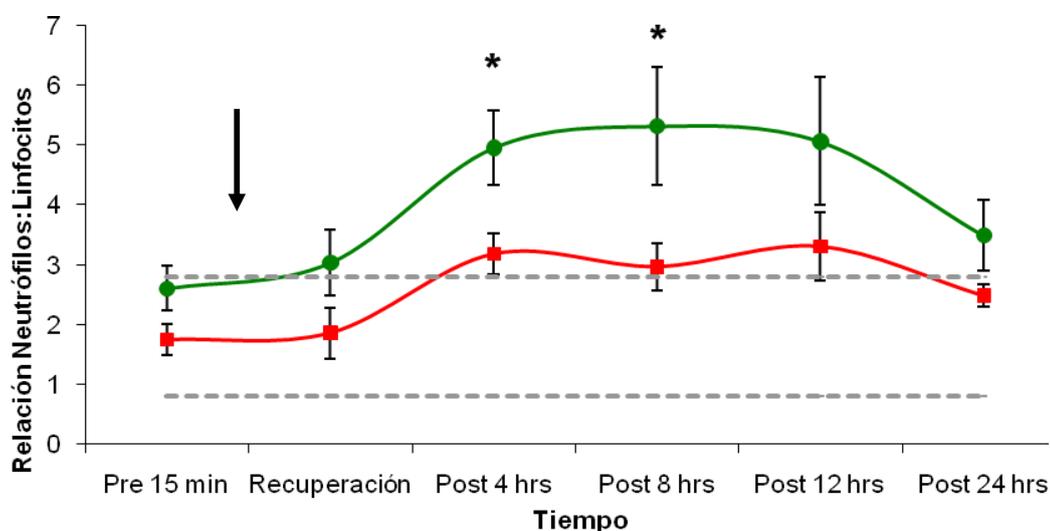


Figura 3. Variación de la relación neutrófilos/linfocitos (promedio \pm EE) durante 24 horas en equinos sometidos a orquiectomía y tratados con analgesia preventiva en base a tramadol (-●-, n=10) o fenilbutazona (-■-, n=10).

* Diferencia significativa entre grupos.

↓ Indica orquiectomía.

5.4 RECUENTO EOSINOFILO

En el tiempo basal tanto el grupo tramadol como el fenilbutazona presentaron recuentos similares de eosinófilos ($P>0,05$), con valores de $420,7\pm 0,38$ cel/ μ L y $266,3\pm 74,8$ cel/ μ L respectivamente. Al comparar el recuento de eosinófilos se observó, en el tiempo recuperación que el grupo tramadol presentó valores significativamente inferiores, con respecto al grupo fenilbutazona ($P<0,05$), como se muestra en la figura 4.

El grupo fenilbutazona presentó un recuento de eosinófilos constante durante todos los tiempos de muestreo ($P>0,05$) junto con encontrarse dentro del rango de referencia establecido para la especie. De igual forma el grupo tramadol presentó recuento de eosinófilos constantes ($P>0,05$), sin embargo no se mantuvo siempre dentro del rango de referencia para la especie, esto se evidencia en el tiempo post 4 hrs donde el recuento de eosinófilos es menor al rango de referencia para equinos (Figura 4).

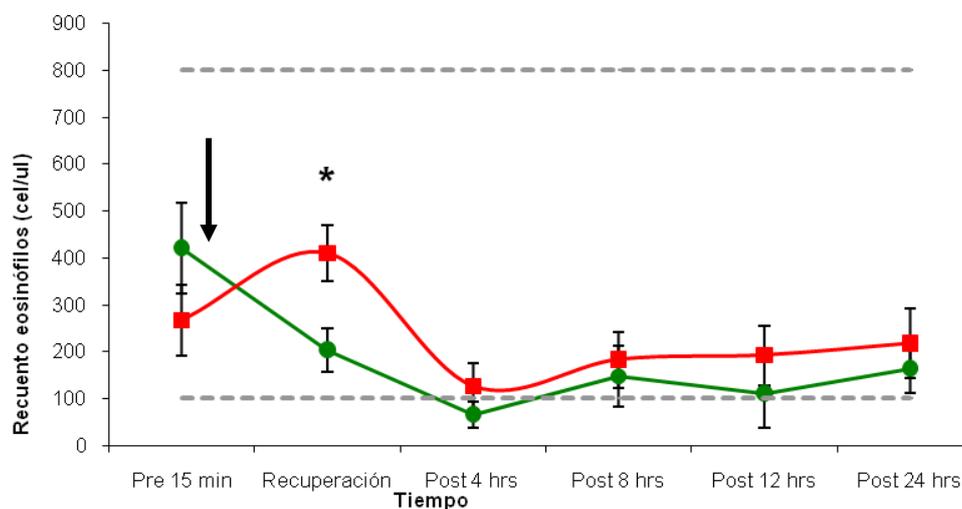


Figura 4. Variación del recuento de eosinófilos (promedio \pm EE) durante 24 horas en equinos sometidos a orquiectomía y tratados con analgesia preventiva en base a tramadol (-●-, n=10) o fenilbutazona (-■-, n=10).

* Diferencia significativa entre grupos.

↓ Indica orquiectomía.

Mediante el análisis de Spearman se determinó que el recuento de eosinófilo presentó una correlación leve y negativa con la concentración plasmática de glucosa ($r=-0,3$) y una correlación moderada y negativa con la relación neutrófilos:linfocitos ($r=-0,5$), en el grupo tramadol. Adicionalmente en este grupo la concentración de glucosa presentó una correlación leve y positiva con la relación neutrófilos:linfocitos ($r=0,3$). En el grupo fenilbutazona la concentración sérica de cortisol se correlacionó leve y negativamente con la relación neutrófilos:linfocitos ($r=-0,3$) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Valores de correlación de Spearman (r) entre las variables sanguíneas y hematológicas analizadas para el grupo tramadol (n=10) y fenilbutazona (n=10), en equinos sometidos a orquiectomía.

	Grupo Tramadol		Grupo Fenilbutazona	
	r	P	r	P
Cortisol-rec. eosinófilos	-0,15	0,27	-0,10	0,46
Cortisol-glucosa	-0,09	0,48	-0,05	0,72
Cortisol-rel. N:L	0,05	0,73	-0,30	0,03
Rec. eosinófilos-glucosa	-0,33	0,01	-0,12	0,38
Rec. eosinoflios-rel. N:L	-0,50	0,00	0,08	0,57
Glucosa-rel. N:L	0,37	0,01	-0,05	0,70

6. DISCUSIÓN

6.1 CORTISOL

En este estudio las concentraciones promedio de cortisol, presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) entre los grupos tramadol y fenilbutazona (Cuadro 1), este resultado no coincide con lo descrito por Raekallio y col (1997), quienes en equinos sometidos a artroscopia, con analgesia en base a fenilbutazona y un placebo, no encontraron variaciones en las concentraciones de cortisol. Esta diferencia probablemente se deba a que la artroscopia produce una respuesta de estrés en equinos relativamente menor en comparación con otros procedimientos quirúrgicos. Según Sanz y col (2009), quienes realizaron orquiectomía en equinos y compararon el efecto analgésico de fenilbutazona y butorfanol, determinando que el grupo tratado con fenilbutazona presentó una tendencia a menores concentraciones de cortisol, estas diferencias estarían determinadas por las propiedades de los fármacos utilizados, debido a que butorfanol al igual que tramadol son analgésicos y no antiinflamatorio a diferencia de la fenilbutazona que es antiinflamatorio y analgésico.

Los valores basales para cortisol en este estudio no presentaron diferencias significativas entre los grupos, siendo para el grupo tramadol de $6,5 \pm 1,0 \mu\text{g/dL}$ y de $4,6 \pm 0,4 \mu\text{g/dL}$ para fenilbutazona (Figura 1), estos valores se encontraron dentro del rango de referencia de cortisol en equinos que es de $1,26 \mu\text{g/dL}$ a $8,69 \mu\text{g/dL}$ (Werner 2006). Debido a que las concentraciones de cortisol son extremadamente variables, las comparaciones absolutas no deberían realizarse entre estudios, por lo que se recomienda realizar mediciones antes y después de un manejo estresante en los mismos animales (Grandin 1997). Otro punto importante a considerar dentro de la alta variabilidad de las concentraciones de cortisol es la existencia del ritmo circadiano, con un pick temprano en la mañana y una baja en la tarde-temprana y tarde-tarde. Se ha encontrado que los cambios circadianos no ocurren o lo hacen ocasionalmente en caballos, en caso de existir puede ser alterado con la menor perturbación como por ejemplo con la remoción de un equino desde su ambiente normal (Irvine y Alexander 1994). Como una forma de minimizar las variaciones que se podrían producir en caso de existir el ritmo circadiano en los caballos estudiados, se realizaron las muestras en los mismos horarios para todos los animales.

Las concentraciones de cortisol en el grupo fenilbutazona fueron constantes ($P > 0,05$) durante todos los tiempos de muestreos, en cambio el grupo tramadol presentó diferencias significativas ($P < 0,05$), en los tiempos de recuperación y post 4 hrs con respecto a su valor basal (Figura 1). Según Sanz y col (2009), quienes realizaron orquiectomía de potros, utilizando tres protocolos analgésicos: fenilbutazona, butorfanol y fenilbutazona-butorfanol, junto con infiltración intratesticular de lidocaína, sin encontrar diferencias significativas ($P > 0,05$) en las concentraciones de cortisol, lo cual coincide con los resultados del grupo fenilbutazona, pero no con el grupo tramadol. Estas diferencias pueden estar dadas por la infiltración de lidocaína intratesticular, la cual puede enmascarar la efectividad de los

analgésicos, en cambio en el presente estudio no se realizó este procedimiento. La disminución de las concentraciones de cortisol en orquiectomía con utilización de lidocaína intratesticular ha sido comprobada en terneros (Fisher y col 1996). Las concentraciones de cortisol para el grupo tramadol coincide con lo reportado por van Dijk y col (2003), quienes demostraron que caballos sometidos a laparotomía exploratoria y que recibieron como tratamiento analgésico detomidina-buprenorfina presentaban aumentos en las concentraciones de cortisol posteriores a la cirugía, este hallazgo sugiere que la administración de detomidina-buprenorfina no impide la estimulación quirúrgica del sistema nervioso simpático y que los aumentos en las concentraciones de cortisol demuestra la respuesta hormonal normal al estrés quirúrgico. Buprenorfina es un analgésico 110 veces más potente que la morfina, en cambio tramadol tiene un poder analgésico 600 veces menor a esta (Rawal 2001, Guerrero y col 2002), por lo cual probablemente tramadol por si solo tampoco es capaz de impedir la estimulación quirúrgica del sistema nervioso.

Las mayores concentraciones de cortisol en los equinos tratados con tramadol también pueden estar determinadas por la corta vida media del tramadol endovenoso en dosis de 2 mg/kg, que es de 82 ± 10 min en equinos (Shilo y col 2007), en comparación con la vida media de fenilbutazona endovenosa que alcanza 7,4 hrs (Lizarraga y Sumano, 1998), además esto explica la diferencia significativa entre los grupos tramadol y fenilbutazona en el tiempo de muestreo post 4 hrs, ya que en este tiempo tramadol ya no tenía efecto analgésico en cambio fenilbutazona aun no cumplía su tiempo de vida media.

Es importante destacar que equinos sometidos a anestesia sin procedimientos quirúrgicos también presentan aumento de la concentración de cortisol. Según Taylor (1990) quien en equinos sometidos a anestesia sin cirugía describió aumentos en las concentraciones de cortisol, los efectos fueron de corta duración y se extendieron únicamente por 2 hrs posterior al procedimiento quirúrgico. En cambio en el grupo tramadol se estableció que los valores de cortisol sérico se mantuvieron aumentados hasta 8 hrs post cirugía, esta diferencia se explica por la correlación positiva que existe entre la gravedad de la lesión tisular y las concentraciones de cortisol postoperatorio (Desborough 2000).

Las concentraciones de cortisol en este estudio no presentaron correlaciones con ninguna de las otras variables medidas. Esto se debió posiblemente al número de equinos muestreados. Según Schaafsma (2009), quien al evaluar dolor postquirúrgico en equinos señaló que para obtener más seguridad en los resultados sería necesario un mayor número de equinos, pero que esto se ve limitado muchas veces por los costos y por el principio de reducción del número de animales de experimentación.

6.2 GLUCOSA

Las concentraciones promedios de glucosa en este estudio presentaron diferencias ($P < 0,05$) entre los grupos fenilbutazona y tramadol (Cuadro 1), lo cual probablemente se deba a las diferencias entre las propiedades de tramadol y fenilbutazona, lo que coincidiría con lo planteado por Sanz y col (2009), quienes sostienen que los caballos tratados solo con analgésico deberían presentar mayor inflamación escrotal postorquiectomía y por lo mismo

presentar mayor signología de dolor y estrés. Los aumentos en la concentración de glucosa también han sido demostrados en equinos sometidos a otras situaciones de estrés, no necesariamente quirúrgicas, como los son el ejercicio intenso (Barra 2007) y el tiro de carga (Pérez y col 1992). Otra causa de aumentos de glucosa es la alimentación, además Gordon y McKeever (2005) quienes describieron aumentos en las concentraciones de glucosa en yeguas posterior a la alimentación de la mañana, relacionaron este aumento con el ritmo circadiano del cortisol.

Las concentraciones basales de glucosa fueron semejantes entre grupos ($P>0,05$), con valores para el grupo tramadol de $4,0\pm 0,3$ mmol/L y para el grupo fenilbutazona de $3,8\pm 0,2$ mmol/L (Figura 2), ambos grupos estuvieron dentro del rango de referencia para la especie $4,2-7,0$ mmol/l (Wittwer y Böhmwald 1983).

Las concentraciones de glucosa del grupo tramadol fueron significativamente mayores ($P<0,05$) a las del grupo fenilbutazona, desde el tiempo post 4 hrs hasta el tiempo post 24 hrs (Figura 2). Según Kaneko (1997) las concentraciones de glucosa son dependientes a las concentraciones de cortisol relacionadas a situaciones de estrés, esto explicaría el aumento de las concentraciones de glucosa un tiempo después que las concentraciones de cortisol (Figura 1 y 2). Esta dependencia es explicada por Tresguerres (1999), quien plantea que los glucocorticoides refuerzan las acciones del sistema nervioso simpático sobre el sistema circulatorio y contribuyen a mantener las concentraciones de glucosa en sangre ante una situación de estrés. Según Cunnigham (1999), el cortisol aumenta las concentraciones circulantes de glucosa debido a su efecto neoglucogénico a nivel hepático y las catecolaminas elevan la glucemia debido a su acción glucogenolítica.

La dependencia entre las concentraciones de cortisol y glucosa, ha sido descrita por van Dijk y col (2003), quienes al realizar laparoscopia en equinos determinaron aumentos de cortisol, asociado a hipoinsulinemia e hiperglucemia. Paralelamente, Demirbilek y col (2007) quienes al realizar histerectomía electiva de mujeres, determinaron que el aumento de cortisol estimula la producción de glucosa y contrarresta la acción de la insulina, lo que genera hiperglucemia, la cual se observa a los 30 min posterior a la incisión en piel. Sin embargo las concentraciones de glucosa en los grupos tramadol y fenilbutazona, no presentaron correlación con ninguna de las otras variables, probablemente por la misma razón anteriormente mencionada para la concentración de cortisol.

6.3 RELACION NEUTRÓFILOS:LINFOCITOS (N:L)

La relación promedio de N:L fue diferente ($P<0,05$) entre los grupos tramadol y fenilbutazona (Cuadro 1), lo cual no coincide con los resultados de Lemke y col (2002), quienes en ovariectomía en caninos midieron leucograma de estrés en dos grupos uno control y segundo tratado con un AINEs, sin encontrar diferencias entre grupos, esto puede deberse a lo planteado por Stockham y col (2003), quienes en caninos sometidos a estrés establecieron variaciones leves en el leucograma en comparación con otras especies. En equinos sometidos a ejercicio intenso como factor de estrés si se presentan variaciones

significativas al comparar los leucogramas pre y post ejercicio, y son más significativas estas diferencias en el recuento de neutrófilos (Donovan 2007).

La relación N:L presentó valores basales similares ($P>0,05$) en ambos grupos, tramadol y fenilbutazona, con valores de $2,6\pm 0,3$ y $1,7\pm 0,2$ respectivamente (Figura 3), estos valores se encontraron dentro del rango de referencia establecido para la especie equina que es de 0,8–2,8 (Meyer y Harvey 2000, Werner 2006).

La relación N:L presentó diferencias ($P<0,05$) entre los grupos tramadol y fenilbutazona en los tiempos post 4 hrs y post 8 hrs (Figura 3). El aumento de la relación N:L se puede explicar por el aumento de las concentraciones séricas de cortisol, ya que la neutrofilia es generada por los glucocorticoides los que producen un aumento de la liberación de neutrófilos maduros desde la médula ósea y una disminución del paso de neutrófilos desde la sangre hacia los tejidos. La linfopenia se genera por una redistribución de los linfocitos desde la sangre circulante hacia la médula ósea y nódulos linfáticos, en respuesta a la liberación de glucocorticoides (Stockham y col 2003). Según Siracusa y col (2008), en orquiectomía de perros un aumento cuatro veces mayores de la relación N:L en los muestreo posteriores a la cirugía. En el presente estudio la relación N:L aumento al doble del valor basal desde el tiempo post 4 hrs hasta post 12 hrs. En equinos el aumento de la relación N:L se ha descrito también bajo otras situaciones estresantes como el transporte prolongado (Stull y Rodiek 2000). En el caso del estrés quirúrgico el aumento de esta relación podría ser mayor, puesto que se ha descrito la apoptosis de linfocitos después de un estrés perioperatorio (Alleva y col 2003).

6.4 RECUENTO EOSINÓFILOS

En el tiempo basal el grupo tramadol y el grupo fenilbutazona presentaron recuentos de eosinófilos similares ($P>0,05$), con valores de $420,7\pm 0,38$ cel/ μ L y $266,3\pm 74,8$ cel/ μ L respectivamente (figura 4), ambos grupos se encontraron dentro del rango de referencia para equinos que es de 100-800 cel/ μ L (Wittwer y Böhmwald 1983).

En este estudio ambos grupos presentaron recuentos de eosinófilos constantes en todos los tiempos, a pesar de lo descrito por Stockham y col (2003), quienes afirman que habiendo aumento de glucocorticoides debería generarse eosinopenia.

El tiempo de recuperación presentó diferencia ($P<0,05$) entre los grupos, esto probablemente se debió a que el recuento de eosinófilos del grupo tramadol disminuyó y en el grupo fenilbutazona aumento (Figura 4), sin embargo estos cambios no fueron significativos, pero coinciden con el aumento de las concentraciones de cortisol. Lo cual coincide con Siracusa y col (2008) quienes en orquiectomía de caninos describieron eosinopenia inmediatamente posterior a la cirugía, además el cambio en el recuento de eosinófilo duro muy poco tiempo, por lo cual concluyeron que la respuesta de eosinófilos está más relacionada con las concentraciones de glucocorticoides que con la lesión tisular.

El recuento de eosinófilo presentó una correlación negativa ($r=-0,5$) con la relación N:L, lo cual es lógico si se considera que los aumentos en la liberación de glucocorticoides provocan cambios en el leucograma, generando el denominado leucograma de estrés, caracterizado por neutrofilia, linfopenia, monocitosis y eosinopenia (Meyer y col 1995).

6.5 CONCLUSIONES

Bajo las condiciones en que se realizó este estudio, se puede concluir que:

- La administración de tramadol en dosis única de 3 mg/kg por vía endovenosa como analgesia preventiva en equinos sometidos a orquiectomía, no es suficiente para mantener constantes las variables bioquímicas sanguíneas y hematológicas indicadoras de estrés.
- Al comparar los grupos tramadol y fenilbutazona, es posible suponer que fenilbutazona produce una analgesia más efectiva, debido a que los indicadores de estrés se mantuvieron constantes dentro de este grupo, durante todos los tiempos de muestreo.
- Las variables que presentaron una mayor correlación($r=-0,5$) fue la relación neutrófilos:linfocitos con el recuento de eosinófilos. Sin embargo las concentraciones de cortisol y glucosa, junto con la relación N:L fueron los indicadores más sensibles para evaluar estrés postquirúrgico.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Alexander S, C Irvine, M Ellis, R Donald. 1991. The effect of acute exercise on the secretion of corticotrophin release factor, arginine vasopressin and adrenocorticotropin as measured in pituitary venous blood from the horse. *J Endocrinol* 128, 65-72.
- Alleva R, M Tomasetti, MD Solenghi, F Stagni, F Gamberini, A Bassi, PM Fornasari, G Fanelli, B Borghi. 2003. Lymphocyte DNA damage precedes DNA repair or cell death after orthopaedic surgery under general anaesthesia. *Mutagenesis* 18, 423-428.
- Anil SS, L Anil, J Deen. 2002. Challenges of pain assessment in domestic animals. *JAVMA* 220, 313-319.
- Anon A. 1983. International Association for the Study of Pain (IASP). *Pain* 16, 31-32.
- Bahamondes F. 2004. La institucionalidad del bienestar animal, un requisito para su desarrollo normativo, científico y productivo. Acuerdo Sanitario y Fitosanitario entre la Comunidad Europea y Chile. Santiago.
- Bertone JJ, LJI Horspool. 2004. Non-steroidal antiinflammatory drugs. In: Bertone JJ and Horspool LJI (ed). *Equine clinical pharmacology*. 1 ed. Saunders, UK, Pp 257.
- Botana L M, M F Landoni, T Martín-Jimenez. 2002. Farmacología y Terapéutica Veterinaria. Pp: 364-365. McGraw-Hill, Madrid, España.
- Brandenberger G, M Follenius, B Hietter. 1982. Feedback from meal-related peaks determines diurnal changes in cortisol response to exercise. *J Clin Endocr Metab* 54, 592-596.
- Breazile JE. 1987. Physiologic basis and consequences of distress in animals. *JAVMA* 191, 1212-1215.
- Broom DM. 1988. The scientific assessment of animal welfare. *Appl Anim Behav Sci* 20, 5-19.
- Broom DM. 1991. Animal welfare: concepts and measurements. *J Anim Sci* 69, 4167-4175.
- Broom DM. 2003. Causes of poor welfare in large animals during transport. *Vet Res Comm* 27, 515-518.
- Caballero SC, HS Sumano. 1993. Caracterización del estrés en bovinos. *Arch Med Vet* 25, 15-29.

- Chambers PG, T Grandin. 2001. Guidelines for humane handling, transport and slaughter of livestock. En: Heinz G, T Srisuvan (eds.) *Food and Agriculture Organization of the United Nations. Regional Office for Asia and the Pacific*. RAP Publication. FAO.
- Dayer P, J Desmeules, L Collart. 1997. Pharmacology of tramadol. *Drugs* 2, 18-24.
- Demirbilek S, Ganidagli S, Aksoy N, Becerik C, Baysal Z. 2004. The Effects of Remifentanil and Alfentanil-based Total Intravenous Anesthesia (TIVA) on the Endocrine Response to Abdominal Hysterectomy. *J Clin Anesth* 16, 358-363.
- Desborough JP. 2000. The stress response to trauma and surgery. *Br J Anaesth* 85, 109-117.
- Donovan DC, CA Jackson, PT Colahan, NN Norton, JL Clapper, JN Moore, DJ Hurley. 2007. Assessment of exercise-induced alterations in neutrophil function in horses. *Am J Vet Res* 68, 1198-1204.
- Driessen B. 2007. Pain: Systemic and Local/Regional Drug Therapy. *Clin Tech Equine Pract* 6, 135-144.
- Eckert R, DJ Randall, W Burggren, K French. 1997. *Animal physiology*. 4th ed. Freeman, New York, United States, Pp 329.
- Evans DL. 1985. Cardiovascular adaptations to exercise and training. *Vet Clin N Am Equine* 1, 513-527.
- Evans J, A Marshall, N Kitson, K Summers, R Donald. 1993. Factor affecting ACTH release from perfused equine anterior pituitary cells. *J Endocrinol* 137, 391-401.
- FAWC. 1993. Farm Animal Welfare Council, second report on priorities for research and development in farm animal welfare. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food.
- Finkel DM, HR Schlegel. 2003. El dolor postoperatorio. Conceptos básicos y fundamentos para un tratamiento adecuado. *Rev Hosp Gen Agudos Dr J M Ramos Mejía* 8, 1-17.
- Fisher AD, MA Crowe, ME Alonso de la Varga. 1996. Effect of castration method and the provision of local anesthesia on plasma cortisol, scrotal circumference, growth, and feed intake of bull calves. *J Anim Sci* 74, 2336-2343.
- Grandin T. 1997. Assessment of stress during handling and transport. *J Anim Sci* 75, 249-257.
- Green P. 2001. Castration techniques in the horse. *In Pract* 23, 250-261.
- Guerrero M, J González, H Lacassie. 2002. Introducción al problema del dolor y fármacos analgésicos. *Dolor: aspectos básicos y clínicos*. Ediciones Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile, Pp 13-22; 127-158.

- Gordon ME, KH McKeever. 2005. Diurnal variation of ghrelin, leptin, and adiponectin in Standardbred mares. *J Anim Sci* 83, 2563-2371.
- Herdt T. 1999. Fisiología gastrointestinal y metabolismo. En: Cunningham JG (ed). *Fisiología Veterinaria*. McGraw-Hill Interamericana, Ciudad de Mexico, México, Pp 295-431.
- Hoffman-Goetz L, B Pedersen. 1994. Exercise and the immune system: a model of the stress response?. *Immunol Today* 15, 382-387.
- Irvine CHG, SL Alexander. 1994. Factors affecting the circadian rhythm in plasma cortisol concentrations in the horse. *Domest Anim Endocrinol* 11, 227-238.
- Jain NC. 1993. *The eosinophils*. Essentials of veterinary hematology. Lea and Febiger, Philadelphia, United States, Pp 247-258.
- Johnson HE, WJ Vanjonack. 1976. Effects of environmental and other stressors on blood patterns in lactating animals. Symposium: stress and health of dairy cow. *J Dairy Sci* 59, 1603-1617.
- Kaneko JJ. 1997. Carbohydrate Metabolism and its Diseases. En: Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML (eds.). *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 5th ed. Academic Press, California, United States, Pp 45-81.
- Kerr MG. 1989. *Veterinary Laboratory Medicine; Clinical Biochemistry and Haematology*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, England.
- Lee DHR. 1965. Climatic stress indices for domestic animals. *Internat'l J Biometeorol* 9, 29-35.
- Lemke KA, CL Runyon, BS Horney. 2002. Effects of preoperative administration of ketoprofen on whole blood platelet aggregation, buccal mucosal bleeding time, and hematologic indices in dogs undergoing elective ovariohysterectomy. *J Am Vet Med Assoc* 220, 1818-1822
- Livingston A. 2002. Ethical issues regarding pain in animals. *JAVMA* 2, 229-233.
- Lizágarra I, H Sumano. 1998. Bases farmacológicas del uso de antiinflamatorios no esteroideos en caballos. *Vet Méx* 29.
- Mathews K. 2004. Manejo de dolor en los gatos. En: Otero P (ed). *Dolor: evaluación y tratamiento en pequeños animales*. Inter-médica, Buenos Aires, Argentina, Pp 149-160.

- Meyer DJ, EH Coles, LJ Rich. 1995. *Medicina de Laboratório Veterinária interpretação e Diagnóstico*. 1 ed. Roca, São Paulo, Brasil, Pp 27-29.
- Moberg GP. 2000. Biological response to stress: implications for animal welfare. En: Moberg GP, Mench JA (eds). *The biology of animal stress*. CABI Publishing, New York, United States, Pp 1-22.
- Molony V, JE Kent. 1997. Assessment of acute pain in farm animals using behavioral and physiological measurements. *J Anim Sci* 75, 266-272.
- Mormede P, S Andanson, B Auperin, B Beerda, D Guémené, J Malmkvist, X Manteca, G Manteuffel, P Prunet, CG von Reenen, S Richard, I Veissier. 2007. Exploration of the hypothalamic-pituitary-adrenal function as a tool to evaluate animal welfare. *Physiol Behav* 92, 317-339.
- Muir W, R Skarda. 2002. Pain management in the horse. En: Gaynor J, Muir W. *Handbook of Veterinary Pain Management*. Mosby, Phyladelphia, United States, Pp 420-444.
- Muir W, AJ Weise, TE Wittun. 2004. Prevalence and characteristics of pain in dogs and cats examined as outpatients at a veterinary teaching hospital. *JAVMA* 9, 1459-1463.
- Munck A, PM Guyre, NJ Holbrook. 1984. Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions. *Endocr Rev* 5, 25-44.
- Natalini CC, Robinson E. 2006. Evaluation of the analgesic effects of epidurally administered morphine, alfentanil, butorphanol, tramadol and U50488H in horses. *AJVR* 61, 1579-1586.
- Pérez R, S Recabarren, A Islas, C Jara, P Valdés, E Hetz. 1992. Glucosa, ácido láctico y equilibrio ácido-base en equinos de tiro sometidos a ejercicio de tracción prolongada. *Arch Med Vet* 23, 43-51.
- Queyras A, M Carosi. 2004. Non-invasive techniques for analysing hormonal indicators of stress. *Ann Ist Super Sanita* 40, 211-221.
- Raekallio M, PM Taylor, RC Bennett. 1997. Preliminary Investigations of Pain and Analgesia Assessment in Horses Administered Phenylbutazone or Placebo After Arthroscopic Surgery *Vet Surg* 26, 150-155.
- Rawal N. 2001. Opioides en el dolor agudo. En: Stein C (ed). *Opioides en el control del dolor*. MASSON, Barcelona, España, Pp 239-260
- Robertson S. 2002. What is pain?. *JAVMA* 2, 202-205.

- Robertson S. 2006. Current concepts in postoperative pain management for companion animals - myths and facts. *9th world congress of veterinary anaesthesiology* Brazil.
- Sanz MG, Sellon DC, Cary JA, Hines M, Farnsworth K. 2009. Analgesic effects of butorphanol tartrate and phenylbutazone administered alone and in combination in young horses undergoing routine castration. *J Am Vet Med Assoc* 235, 1194-1203.
- Schaafsma MK. 2009. Assessment of pain in horses after surgical castration. Composition of a pain scale. *Tesis doctoral*, Faculty of Veterinary Medicine, Utrecht University.
- Sellon D. 2006. Recognition and Treatment of Pain in Horses. Leading Edge, Veterinary Forum. Pp 44-48.
- Shaw FD, RK Tume. 1992. The assessment of pre-slaughter and slaughter treatments of livestock by measurement of plasma constituents-A review of recent work. *Meat Sci* 32, 311-329.
- Shilo Y, M Britzi, B Eytan, T Lifschitz, S Soback, A Steinman. 2007. Pharmacokinetics of tramadol in horses after intravenous, intramuscular and oral administration. *J vet Pharmacol Therap* 31, 60-65.
- Short CE 1995. Equine pain: use of non-steroidal anti-inflammatory drugs and analgesics for its prevention and control. *Equine Pract* 17, 12-22.
- Siracusa C, X Manteca, J Cerón, S Martínez-Subiela, R Cuenca, S Lavín, F Garcia, J Pastor. 2008. Perioperative stress response in dogs undergoing elective surgery: variations in behavioural, neuroendocrine, immune and acute phase responses. *Anim Behav* 17, 259-273.
- Stockham SL, KS Keeton, B Szladovits. 2003. Clinical assessment of leukocytosis: Distinguishing leukocytoses caused by inflammatory, glucocorticoid, physiologic, and leukemic disorders or conditions. *Vet Clin North Am Small* 33, 1335-1357.
- Stuff CL. 1996. History of U.S. equine welfare and legislation. *Prakt Tierarzt* 4, 391-392.
- Stull CL, AV Rodiek. 2000. Physiological responses of horses to 24 hours of transportation using a commercial van during summer conditions. *J Anim Sci* 78, 1458-1466.
- Tabacchi D, S Mastrocinque. 2004. Analgesia Preventiva. En: Otero P (ed). *Dolor: evaluación y tratamiento en pequeños animales*. Inter.-médica, Buenos Aires, Argentina, Pp 73-80.
- Tadich N, C Gallo, H Bustamante, M Schwerter, G van Schaik. 2005. Effects of transport and lairage time on some blood constituents of Friesian-cross steers in Chile. *Livest Prod Sci* 93, 223-233.

- Taylor PM. 1990. The stress response to anesthesia in horses: anesthesia barbiturates. *Equine Vet J* 22, 307-312.
- Torres LM, J Martinez-Vazquez de Castro. 2000. Prevalencia del dolor postoperatorio. Alteraciones fisiopatológicas y sus repercusiones. *Rev Soc Esp Dolor* 7, 465-475.
- Tresguerres J. 1993. *Fisiología humana*. McGraw-Hill (ed.), Madrid, España, Pp 1147-1148.
- Tsigos C, GP Chrousos. 2002. Hypothalamic- pituitary- adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *J Psychosomatic Res* 53, 865-871.
- Uherek F, E Rocco, N Carey. 2001. Dolor postoperatorio en hernia inguinal. *Cuadernos de Cirugía* 15, 70-73.
- von Borell EH. 2001. The biology of stress and its application to livestock housing and transportation assessment. *J Anim Sci* 79, 260-267.
- van Dijk P, DPK Lankveld, ABM Rijkenhuizen, FH Jonkerz. 2003. Hormonal, metabolic and physiological effects of laparoscopic surgery using a detomidine^buprenorphine combination in standing horses. *Vet Anaesth Analg* 30, 71-79
- Waran NK. 1997. Can studies of feral horse behaviour be used for assessing domestic horse welfare?. *Equine Vet J* 29, 249-251.
- Werner M. 2006. Efectos del transporte y manejo pre-sacrificio sobre las concentraciones de algunos constituyentes sanguíneos relacionados con estrés en equinos. Tesis Magister, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Chile.
- Wittwer F, H Bôhmwald. 1983. Manual de patología clínica veterinaria. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile.
- Zahorec R. 2001. Ratio of neutrophil to lymphocyte counts-rapid and simple parameter of systemic inflammation and stress in critically ill. *Bratisl lek Listy* 102, 5-14.
- Zavy MT, PE Juniewicz, WA Phillips, DL Von Tungeln. 1992. Effects of initial restraint, weaning and transport stress on baseline and ACTH stimulated cortisol responses in beef calves of different genotypes. *Am J Vet Res* 53, 551-557.
- Zingman LV, DM Hodgson, AE Alekseev, A Terzic. 2003. Stress without distress: homeostatic role for K_{ATP} channels. *Mol Psychiatry* 8, 253-254.

8. AGRADECIMIENTOS

A los docentes que participaron de una u otra forma en la realización de este estudio, por su paciencia, disposición y simpatía...muchas gracias.

A la Sra. Helga, Sra. Vero, Don Atilio, Don Saul y a los residentes Paula y Carl, por su ayuda tanto en la toma muestras como en su análisis.

A mis padres, gracias por brindarme la oportunidad de convertirme en una profesional y por su incondicionalidad, confianza y amor que me han dado durante toda mi vida.

A mi querida y numerosa familia, por su preocupación y apoyo constante.

A mi hermana por su eterna alegría y cariño.

A mi abuela Rebeca por su aporte a mi formación como mujer y por sus rezos.

A mis amigas y amigos por existir, por ser mi otra familia durante esta etapa de mi vida, por tantos momentos buenos y malos, que me ayudaron a crecer como persona.

Y en especial a mi tata Abel por las grandes enseñanzas que me dejó que van a servir siempre y por ser el ángel que me acompaña