

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

**INDICADORES SANGUÍNEOS DE ESTRÉS EN EQUINOS SOMETIDOS A
ORQUIECTOMÍA, TRATADOS EN BASE A FENILBUTAZONA O A LA
COMBINACIÓN DE FENILBUTAZONA Y TRAMADOL**

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

MARCELA VIVIANA ROJAS LEYTON

VALDIVIA – CHILE

2010

PROFESOR PATROCINANTE

Juan Sebastián Galecio Naranjo Firma

PROFESOR COPATROCINANTE

Tamara A. Tadich Gallo Firma

PROFESORES CALIFICADORES

Rafael A. Burgos Aguilera Firma

Carmen B. Gallo Stegmaier Firma

FECHA DE APROBACIÓN: 09 de Septiembre del 2010

“Eludir las dificultades no es vencerlas.”

Eugenio Noel

ÍNDICE

Capítulo	Página
1. RESUMEN.....	1
2. SUMMARY.....	2
3. INTRODUCCIÓN.....	3
4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	10
5. RESULTADOS.....	14
6. DISCUSIÓN.....	19
7. BIBLIOGRAFÍA.....	23
8. ANEXOS.....	28
9. AGRADECIMIENTOS.....	36

1. RESUMEN

El objetivo de este estudio fue comparar los cambios en las variables hematológicas y bioquímicas sanguíneas, que son indicadores de estrés en caballos sometidos a orquiectomía. La hipótesis planteada fue que la administración preoperatoria de Fenilbutazona, así como la combinación de tramadol con Fenilbutazona tendrán valores similares indicadores sanguíneos de estrés en caballos sometidos a orquiectomía.

El estudio se realizó con 19 equinos mestizos sometidos a orquiectomía. Previo a la cirugía se les administró uno de los dos protocolos de analgesia preventiva: un grupo recibió 3 mg / kg de Fenilbutazona y el otro una combinación de tramadol-Fenilbutazona (1,5 mg / kg y 1,5 mg / kg, respectivamente). Seis muestras de sangre fueron tomadas por animal; la primera muestra se obtuvo antes de la cirugía y las siguientes muestras después de la cirugía. Se evaluaron las concentraciones de cortisol y glucosa, el recuento de eosinófilos, y la proporción de neutrófilos a los linfocitos.

Se realizó un análisis estadístico, además de pruebas paramétricas y no paramétricas fueron realizados, según corresponda, para analizar las diferencias dentro y entre tratamientos (nivel de significancia $P < 0,05$). Se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos para el cortisol variable ($P < 0,05$). El grupo tratado con la combinación Tramadol-Fenilbutazona mostró mayores concentraciones de cortisol que aquellos tratados con Fenilbutazona. La concentración sérica de cortisol se mantuvo constante ($P > 0,05$) y dentro del rango de referencia durante todo el estudio en los caballos tratados con Fenilbutazona. Mientras tanto, los caballos tratados con Tramadol-Fenilbutazona exhibieron un incremento significativo sobre el rango de referencia máximo en la concentración de cortisol sérico en el tiempo de recuperación en comparación con la muestra basal ($P < 0,05$).

Del presente estudio se puede determinar que la administración preoperatoria de Tramadol-Fenilbutazona en potros, mantuvo constante la concentración de glucosa, relación neutrófilos:linfocitos y recuento de eosinófilos, no así la concentración de cortisol, mientras que la administración preoperatoria de Fenilbutazona mantuvo sin variaciones todas las variables evaluadas. Los caballos castrados y tratados con la combinación Tramadol-Fenilbutazona presentaron mayor estrés en el periodo postquirúrgico, asociado a mayores concentraciones de cortisol y de glucosa que el grupo de Fenilbutazona.

Palabras claves: estrés, equino, fenilbutazona, tramadol.

2. SUMMARY

BLOOD INDICATORS OF STRESS IN HORSES UNDERGOING ORCHIECTOMY IN THE PRESENCE OF PHENYLBUTAZONE OR A COMBINATION OF PHENYLBUTAZONE AND TRAMADOL

The aim of this study was to compare changes in hematological and blood biochemical variables, which are indicators of stress in stallions undergoing orchiectomy. The proposed hypothesis is that preoperative administration of Phenylbutazone, as well as the combination of Tramadol with Phenylbutazone will have similar blood indicators values of stress in stallions undergoing orchiectomy.

Stress indicator studies were performed in 19 crossbred stallions undergoing orchiectomy. Before surgery, the stallions were administered one of two protocols of preemptive analgesia: one group received 3 mg/kg of Phenylbutazone and the other a combination of Tramadol-Phenylbutazone (1.5 mg/kg and 1.5 mg/kg respectively). Six blood samples were taken per animal; the first sample was obtained before surgery and the following samples after surgery. The concentrations of cortisol and glucose, the eosinophil count, and the ratio of neutrophils to lymphocytes were subsequently evaluated.

Statistical analysis, in addition to parametric and nonparametric tests were performed, as required, to analyze the differences within and between treatments (significance level $P < 0.05$). Significant differences were found between treatments for the variable cortisol ($P < 0.05$). Tramadol-Phenylbutazone treated horses yielded higher concentrations than those treated with Phenylbutazone. Serum cortisol concentrations remained constant ($P > 0.05$) and within the reference range throughout the study in Phenylbutazone treated horses. Meanwhile, horses treated with Tramadol-Phenylbutazone exhibited a significant increase in the concentration of serum cortisol in the recovery time compared to the baseline ($P < 0.05$), which is over the maximum reference range.

This study indicates that the preoperative administration of both Phenylbutazone and Tramadol-Phenylbutazone in equines maintains glucose concentration, the ratio of neutrophils to lymphocytes, and the eosinophil count. Nevertheless, whereas the cortisol concentration remained unchanged in the preoperative administration of Phenylbutazone, it exhibited a significant increase when Tramadol-Phenylbutazone was administered preoperatively. Moreover, stallions castrated and treated with the combination Tramadol-Phenylbutazone showed higher level of cortisol than the stallions treated with Phenylbutazone, which can be associated with higher stress level in the postoperative period.

Keywords: stress, horses, phenylbutazone, tramadol.

3. INTRODUCCIÓN

El estrés es una reacción fisiológica que presentan los animales ante una amenaza, ya sea real o implícita, de su integridad que puede alterar la homeostasis del individuo (Selye 1936, McEwen 1999). En respuesta, el cuerpo trata de restablecer el equilibrio interno aumentando la actividad del eje de hipotálamo-hipófisis-adrenal (HPA), lo cual implica liberación, desde el hipotálamo, de la hormona liberadora de corticotropina (CRH), que actúa en la adenohipófisis, causando la liberación de corticotropina (ACTH), que induce, en la corteza suprarrenal, el aumento de la secreción de hormonas corticosteroides; niveles que pueden ser medidos en diferentes fluidos corporales como sangre, saliva u orina (Selye 1936, Noble 2002).

Según la naturaleza de la amenaza que afecte al organismo, podemos diferenciar dos tipos de estrés; estrés psicológico, que puede ser propiciado por la restricción de movimiento, manipulación o simple exposición del animal a un nuevo ambiente y el estrés mediado por tensiones físicas, tales como hambre, sed, fatiga, temperaturas extremas o lesiones (dolor) (Grandin 1997), es así que el dolor se puede considerar como un factor estresante.

Según la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP), el dolor es “una experiencia sensorial y emocional desagradable, que se asocia con un daño real o potencial a los tejidos o descrita en término de dicho daño” (Anon 1983). El dolor se puede clasificar según su duración y localización. De acuerdo a la duración, se diferencia en dolor agudo, que no dura más allá del proceso de cicatrización y dolor crónico, que persiste más allá del tiempo esperado para la cicatrización de la lesión. Dependiendo de la localización, existe el dolor somático, que se encuentra generalmente bien localizado, no así el visceral, que está vagamente localizado y puede referirse desde otras partes del cuerpo (Molony y Kent 1997). Desde su origen hasta la producción de una conducta observable, el dolor pasa por diferentes etapas (Jairo 2005):

- a. Transducción:** Activación de un potencial de acción como resultado de la interacción noxa-receptor del dolor (nociceptor).
- b. Transmisión:** Propagación de ese potencial de acción, en forma de estímulo eléctrico, el cual viaja desde el nociceptor hasta la primera y segunda neurona.
- c. Modulación:** Proceso neuronal dado en el sistema nervioso central (médula y cerebro) que resulta en la propagación, atenuación o inhibición del estímulo doloroso.
- d. Percepción:** Determina la conducta, discriminación y cualidad de la respuesta afectiva, motora y cognitiva ante el estímulo doloroso. Ocurre en estructuras superiores del sistema nervioso central.

En el caso de la orquiectomía, el dolor inicial de la incisión quirúrgica se percibe por el efecto mecánico sobre los nociceptores (presión); después de este estímulo inicial sigue el dolor inflamatorio a través de la sensibilización periférica, que consiste en una reducción del umbral de respuesta de las terminales nerviosas libres de la fibra C y la amplificación de tal respuesta al activarse los nociceptores silentes. Estos dos fenómenos se atribuyen a la liberación local de varios mediadores neurohumorales e inflamatorios en respuesta al trauma, que garantizan la supervivencia tisular y la cicatrización de la herida (Cadavid y Gaviria 2005).

En todo procedimiento quirúrgico aquellos pacientes que no reciben un tratamiento adecuado para disminuir el dolor retrasan su recuperación de manera significativa, en comparación con aquellos que si reciben tratamiento. En parte, esta tardanza está dada por la liberación de hormonas del estrés, las que producen inapetencia e insomnio, desencadenando un estado catabólico global que prolonga el tiempo necesario para la cicatrización. Simultáneamente, el perfil inmunológico se deprime, predisponiendo al animal a padecer complicaciones infecciosas y el patrón ventilatorio promueve un intercambio inadecuado, alterando la homeostasis del organismo. Asimismo, individuos que padecen dolor, producen elevados niveles de catecolaminas, las que son responsables de algunas alteraciones hemodinámicas y desequilibrios hormonales típicos, como por ejemplo la hiperglucemia. Además, estos animales también son propensos a la automutilación. Es por estas razones, que un inadecuado manejo del dolor, puede promover cambios en el sistema de conducción nerviosa, provocando fenómenos de sensibilización que pueden derivar en procesos de dolor crónico, rebeldes al tratamiento con un impacto negativo sobre el animal, tal vez superior a los que originaron la decisión de la intervención quirúrgica inicial (Muir 2002, Sanhueza 2005).

3.1. EVALUACIÓN DEL DOLOR

La sensación de dolor es difícil de cuantificar debido a que es eminentemente subjetiva, por lo que su evaluación en pacientes es uno de los mayores obstáculos para veterinarios. Es por esto que se utilizan indicadores de efectos secundarios, como el estrés, para determinar el dolor (Guerrero y González 2002). Dentro de los métodos más utilizados para evaluar los niveles de estrés podemos mencionar cambios del comportamiento; cambios de variables fisiológicas como frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria o variaciones térmicas; y fluctuaciones de variables sanguíneas como hemogramas o niveles de cortisol, lactato, catecolaminas, y endorfinas. Sin embargo, estas prácticas no dejan de ser determinaciones indirectas de la intensidad del sufrimiento que se está desencadenando en el animal (Guerrero y González 2002, Broom 2003). Dentro de estas variables sanguíneas, el leucograma y las concentraciones de glucosa y cortisol han sido ampliamente utilizados para determinar estrés en animales.

3.1.1. Glucosa

Es el monosacárido utilizado como combustible metabólico básico durante periodos de nutrición. Pese a que el organismo puede utilizar otros combustibles metabólicos, la glucosa, casi en cualquier situación, es el único combustible consumido por el sistema nervioso central. Así, un aporte continuo de glucosa es de importancia primordial para el organismo, razón por la que existe un sofisticado sistema de homeostasis para regular su disponibilidad para el cerebro y otros tejidos (Cunningham 2003). Una de las consecuencias de la liberación de glucocorticoides y catecolaminas, como resultado de la activación de la cascada de estrés, es un aumento de los niveles de glucosa en la sangre, mayormente dado por glicogenólisis. Esto proporciona a los tejidos del cuerpo el combustible necesario para el aumento de la demanda metabólica en una situación de emergencia. (Miller y O'Callaghan 2002, Tadich y col 2005). Durante el estrés a corto plazo, los glucocorticoides mejoran la salud mediante la movilización de la energía, sin embargo, el estrés crónico grave (períodos prolongados de altas concentraciones de cortisol) puede disminuir la condición física por la inmunosupresión y la atrofia de los tejidos (Raynaert y col 1976, Munk y col 1984). En equinos¹, el rango referencial de glucosa en la sangre es de 3,8-4,8 mmol/L.

3.1.2. Cortisol

Es el principal glucocorticoide secretado por la corteza suprarrenal en primates, perros, gatos, y la mayoría de ungulados (Broom y Johnson 1993). En mamíferos la producción de cortisol basal generalmente tiene un alza al comienzo de la actividad diaria, lo cual puede ser explicado por el ciclo circadiano que evolucionó para ayudar al organismo a anunciar los desafíos diarios, como búsqueda y consumo de alimento (Moore-Ede y Sulzman 1977). Algunos estudios han encontrado un ritmo circadiano en los equinos, con un pick entre 06:00 y 09:00 horas y una baja entre 19:00 y 23:00 horas, el cual puede ser alterado con la menor perturbación, como remover al caballo de su ambiente normal, lo que resulta en el incremento de la concentración de cortisol (Irvine y Alexander 1994).

Este glucocorticoide tiene varias funciones como contrarrestar alergias, reducir inflamaciones, causar euforia, estimular la actividad diaria y aumentar la concentración de glucosa en la sangre (James y col 1970). Un alza de los niveles de cortisol, en el corto plazo, es benéfica para el organismo, sin embargo, puede ser dañina si se mantiene por períodos prolongados (Khansari y col 1990). Es por estas razones que el cortisol, durante períodos cortos, es un indicador útil de estrés, como durante el manejo de animales o en procedimientos de rutina como castraciones (Lay y col 1992). En el caso del equino el rango de referencia de cortisol va de 34-240 nmol/L (Werner 2006).

¹ Datos correspondientes para caballos de tiro, usados como referencia en el Laboratorio de Patología Clínica del Hospital Veterinario de la Universidad Austral de Chile.

3.1.3. Leucograma

Niveles agudos de estrés aumentan la capacidad del sistema inmune para responder ante patógenos, facilitando el "tráfico" de células a los tejidos donde son requeridos. Los esteroides suprarrenales y catecolaminas actúan como mediadores de este tráfico. Por el contrario, el estrés crónico produce inmunosupresión al amortiguar la respuesta inmune (Dhabhar y McEwen 1997). Los glucocorticoides producen eosinopenia, reduciendo el número de linfocitos circulantes y aumentando el número de neutrófilos, aumentando el coeficiente neutrófilos:linfocitos (Broom y Kirkden 2004). El mecanismo responsable de la linfopenia involucra la marginación y redistribución de los linfocitos entre el sistema linfático y 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). En equinos, la relación neutrófilos:linfocitos va de 0,8 a 2,8 (Morris y Large 1990, Werner 2006) y el rango de referencia² para eosinófilos va de 100-800 cel/ μ L.

3.2. FÁRMACOS ANALGÉSICOS

La comprensión de los mecanismos de transmisión del dolor y nocicepción permiten una elección lógica de los fármacos analgésicos a utilizar en nuestros pacientes, es por esto que a continuación se describen la Fenilbutazona y el Tramadol, los cuales son el eje central del presente trabajo:

3.2.1. Fenilbutazona

Es un analgésico antiinflamatorio no esterooidal (AINE) que reduce la fiebre, el dolor y la inflamación, mediante la inhibición de la actividad de la ciclooxigenasa, enzima que convierte al ácido araquidónico en endoperóxidos cíclicos, que se transforman en prostaglandinas y tromboxanos, que participan en los procesos inflamatorios y dolorosos, sensibilizando a los nociceptores frente a otros mediadores (Martín-Jimenes y Papich 2002).

Es el AINE más utilizado en la práctica equina, especialmente en el tratamiento de problemas musculoesqueléticos (Lizárraga y Sumano 1998). Existen formulaciones tópicas, oral y endovenosa. Su porcentaje de unión a proteínas plasmáticas es muy alto, un 99% (Tobin y col 1986), por lo que el volumen de distribución es bajo. Se metaboliza casi completamente en el hígado a oxifenilbutazona, compuesto activo que se elimina más lentamente que la fenilbutazona e inhibe el metabolismo de ésta (Tobin y col 1977). La concentración máxima en sangre se consigue a las 2-3 horas de su administración oral (biodisponibilidad del 70%). Con dosis lo suficientemente elevadas, los sistemas enzimáticos de metabolismo del fármaco (oxidasas de función mixta) se saturan y se produce la acumulación del mismo. La vida media

² Datos correspondientes para caballos de tiro, usados como referencia en el Laboratorio de Patología Clínica del Hospital Veterinario de la Universidad Austral de Chile.

varía entre 3,5-7 horas (Tobin y col 1986). A pesar de su corta vida media, el carácter de ácido débil de estos fármacos propicia su penetración en el foco inflamatorio con mayor facilidad que en el tejido sano. Esto da lugar a la acumulación del fármaco en el lugar de acción, que persiste incluso después de que los niveles en sangre hayan descendido al mínimo (Martín-Jimenes y Papich 2002). Menos de un 2% del fármaco inalterado es excretado en la orina (Tobin y col 1986). La dosis endovenosa recomendada va de 2,2-4,4 mg/kg/día (Lizárraga y Sumano 1998).

Existen varios efectos adversos ligados al su uso de este fármaco. La severidad de los efectos adversos está relacionada a la dosis y duración de los tratamientos. El uso concomitante de otros fármacos potencialmente tóxicos podría actuar sinérgicamente con los AINEs aumentando su toxicidad. Los efectos adversos más importantes son los siguientes; ulceración gástrica y colitis dorsal derecha como resultado del uso crónico de AINEs, complicaciones renales especialmente en animales hipotensos, relacionado con la inhibición de la síntesis de prostaglandinas encargadas de la regulación del flujo sanguíneo renal. Además, interfiere con la coagulación debido a la inhibición de la agregación plaquetaria, pero esto no parece ser un problema importante en los equinos ya que son ampliamente usados en pacientes equinos siendo raros los problemas de coagulación (Doherty y Valverde 2006).

3.2.2. Tramadol

El clorhidrato de tramadol es un analgésico central misceláneo de acción binaria, ya que posee un mecanismo analgésico opioide y otro no mediado por receptores opioides. Se utiliza en el manejo de dolores moderados a intensos. Se encuentra disponible en forma endovenosa y oral. Su mecanismo de acción opioide proviene de su unión a receptores μ y débilmente a receptores δ y κ . Por otra parte, inhibe la recaptación de serotonina y noradrenalina en el sistema nervioso central impidiendo la transmisión del dolor a través de la médula (Guerrero y Oliva 2002).

El tramadol se distribuye con rapidez, uniéndose a proteínas plasmáticas en un 20%, traspasando incluso la barrera placentaria (Flórez 1997). Además posee una fuerte afinidad tisular y un gran volumen de distribución (Smith 2003). Es metabolizado por el hígado donde aproximadamente un 80% es por desmetilación y posteriormente por conjugación (Lintz y col 1981, Flórez 1997). El mayor metabolito activo en humanos al administrar tramadol es M1, en perros es relativamente menor la proporción de M1 en comparación a otros metabolitos (Wu y col 2001, Kukanich y Papich 2004), siendo este el metabolito con mayor actividad analgésica proveniente de la desmetilación del tramadol (Grond y Sablotzki 2004). Shilo y col (2007), reportan ausencia de metabolitos activos M1 en equinos. En cuanto a su eliminación, tramadol y sus metabolitos son primariamente excretados por la vía renal aproximadamente en un 90%, mientras el remanente es eliminado en las heces, siendo menos del 1% del fármaco y sus metabolitos eliminados por la vía de excreción biliar (Smith 2003). La administración endovenosa de tramadol a una dosis de 2 mg/kg en equinos, tiene una vida media de 82 minutos, que es significativamente corta en comparación a las 5,5 horas reportadas en humanos, pero similar a lo reportado en perros (Shilo y col 2007). En equinos, no se

recomienda la administración vía oral ya que la biodisponibilidad es muy baja (3%) (Shilo y col 2007).

Existe limitada información de los efectos del uso de tramadol en equinos, la mayoría de la información proviene de estudios en pacientes humanos y animales de laboratorio. Las reacciones adversas más frecuentes en humanos son náuseas y emesis, también se describe somnolencia, cefalea, mareos y boca seca (Guerrero y col 2002). Produce mínimos efectos adversos en la función cardiopulmonar, los efectos en la motilidad gastrointestinal son menores que los de la morfina y la toxicidad en órganos es mínima (Doherty y Valverde 2006). En los equinos se ha observado estimulación simpática, excitación a nivel del sistema nervioso central y estimulación de la locomoción. No provoca depresión respiratoria, constipación ni sedación, a diferencia de los opiáceos (Natalini y Robinson 2006). También se describen contracciones musculares, principalmente en los músculos pectorales, durante la administración intramuscular de tramadol en equinos, pero este efecto adverso desaparece al administrarlo lentamente (Shilo y col 2007).

3.3. MANEJO DEL DOLOR

Estudios recientes en anestesiología veterinaria demuestran que el manejo del dolor debe ser considerado debido a que las vías conductoras del dolor en los animales son similares a los humanos. Además, la mayoría de los agentes anestésicos tienen un escaso o nulo efecto analgésico (Sanhueza 2005).

Perkowski y Wetmore (2006³) hacen referencia a diferentes modalidades para proveer analgesia:

Analgesia preventiva: La administración de analgésicos antes de la existencia de un estímulo doloroso. Con esto se minimiza la hipersensibilización central, que produce una elevada percepción del dolor frente a un estímulo dado. Ésta es una estrategia aplicable en las cirugías.

Analgesia dirigida: La analgesia se enfoca en reducir al mínimo los cambios inflamatorios en el sitio de la lesión (Ej.: utilizando un antiinflamatorio no esteroideo, AINE), la inhibición de la transducción o transmisión de la señal nociceptiva (Ej.: mediante el uso de un anestésico local), y/o al aumento de inhibición descendente (Ej.: por medio de un analgésico opioide).

Analgesia multimodal: Es la selección de diferentes clases de analgésicos, que actúan en diferentes partes de la vía de transmisión del dolor, lo que resulta en un efecto sinérgico, más que un mero efecto aditivo.

³ Perkowski y Wetmore. 2006. The science and art of analgesia. In: Recent Advances in Veterinary Anesthesia and Analgesia: Companion Animals, RD Gleed and JW Ludders (Eds). International Veterinary Information Service, Ithaca NY. <http://www.lasec.cuhk.edu.hk/Guidelines/Recent%20advances%20in%20Veterinary%20Anaesthesia%20and%20Analgesia.pdf>

La ventaja potencial de la utilización de la terapia multimodal es que los efectos analgésicos se pueden maximizar mientras que la incidencia de efectos secundarios adversos se minimiza (Picard y col 1997). Usar combinaciones de medicamentos que ofrecen sinergismo analgésico debería permitir una reducción de las dosis requeridas y disminuir la incidencia de efectos adversos (Wei-Wu y col 1999). Las combinaciones de opiáceos y antiinflamatorios no esteroideos (AINE) son comúnmente utilizadas, en este tipo de analgesia, para controlar el dolor postoperatorio (Picard y col 1997, Wideman y col 1999). Combinar estrategias analgésicas como el uso de analgesia preventiva y además fármacos de manera multimodal nos lleva a plantear la siguiente hipótesis.

3.4. HIPÓTESIS

La administración preoperatoria de Fenilbutazona así como la combinación de Tramadol con Fenilbutazona, presentan similares valores en indicadores sanguíneos de estrés en potros sometidos a orquiectomía.

3.5. OBJETIVOS

3.5.1. Objetivo General

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

3.5.2. 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 Fenilbutazona o Tramadol-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 Fenilbutazona o Tramadol-Fenilbutazona.
- Relacionar los cambios entre las concentraciones de cortisol, glucosa, relación neutrófilos:linfocitos y recuento de eosinófilos, previo y posterior a la administración de Fenilbutazona o Tramadol-Fenilbutazona en potros sometidos a orquiectomía.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. MATERIAL

4.1.1. Animales

El estudio se realizó con 19 equinos de raza mestiza, provenientes de la provincia de Valdivia. La edad y peso de los animales fluctuaron entre los 2-8 años y 290-420 kg, respectivamente.

4.1.2. Fármacos

- Fenilbutazona ⁴
- Tramadol ⁵
- Isoflurano ⁶
- Ketamina ⁷
- Diazepám ⁸
- Xilacina ⁹

4.1.3. Equipos y material

Cirugía: Equipo de anestesia para animales mayores SurgiVet LDS 3000[®] equipada con vaporizador para isoflurano SurgiVet 100[®], traqueotubo, jeringas, catéteres, venoclisis, emascador Hauptner[®], hojas de bisturí n°22, mango de bisturí n°4, tijera de material, tijera de tejido y pinzas hemostáticas.

Muestreo: Tubos para muestras sanguíneas, uno con el anticoagulante EDTA (ácido etilendiaminotetraacético), otro con fluoruro de sodio y un tercer tubo sin anticoagulante, además de jeringas de 10 ml y agujas de 21G.

Análisis: Centrífuga Sigma 201M[®], microscopio binocular Carl Zeiss de West Germany[®], autoanalizador Wiener Lab Metrolab 2300[®], autoanalizador hematológico Sysmex KX-21N[®], micropipeta Eppendorf[®] y microtubo Eppendorf[®].

⁴ Equus 20%, frasco de 100 ml, Fabricado por Drag Pharma S.A. Santiago, Chile.

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

⁶ Isoflurano USP frasco de 100 ml. Fabricado por Baxter Healthcare Corporation Puerto Rico. Distribuido por Baxter Chile.

⁷ Ketamina 10%, frasco 50 ml. Fabricado por laboratorio Troy, Australia. Distribuido por Agrovvet S.A. Santiago, Chile.

⁸ Diazepám, ampolla de 2 ml. Fabricado por laboratorio Biosano S.A. Santiago, Chile.

⁹ Xylavet 2%, frasco de 25 ml. Fabricado por Alfasan Internacional B.V. Holanda. Distribuido por Agroland Santiago, Chile.

4.2. MÉTODOS

El presente estudio se llevó a cabo entre Abril del año 2008 hasta Enero del año 2009, en dependencias del Instituto de Ciencias Clínicas Veterinarias de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Austral de Chile.

4.2.1. Recepción y preparación de los equinos

Los animales ingresaron a las dependencias del hospital veterinario 24 horas antes del procedimiento quirúrgico para que pudieran descansar y adaptarse al recinto hospitalario previo a la orquiectomía. Cada potro fue alojado en una pesebrera individual con piso de viruta de madera, donde tenían a disposición heno de alfalfa y agua de bebida. A los animales se les retiró el alimento por lo menos 12 horas previo al procedimiento de orquiectomía, mientras que el agua de bebida se retiró 2 horas antes de iniciar el procedimiento.

4.2.2. Diseño experimental

Se conformaron 2 grupos experimentales, eligiendo de manera aleatoria previo a la orquiectomía el tratamiento que recibirá cada animal. La terapia analgésica preoperatoria se administró 5 minutos antes de la cirugía.

- **Tratamiento con Fenilbutazona:** Fue administrada una dosis preoperatoria de 3 mg/kg de fenilbutazona por vía endovenosa a 10 equinos.
- **Tratamiento con Tramadol-Fenilbutazona:** Fue administrada una dosis preoperatoria de 1,5 mg/kg de fenilbutazona junto a 1,5 mg/kg de tramadol por vía endovenosa a 9 equinos.

4.2.3. Procedimiento de orquiectomía

Cada una de las orquiectomías se efectuó en el pabellón de cirugía de animales mayores del Hospital Clínico Veterinario de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Austral de Chile. La técnica utilizada en cada uno de los potros fue la descrita por Green (2001).

Previo al procedimiento, se realizó un examen clínico y una evaluación pre-anestésica, ingresando al programa sólo los animales que se encontraron en la categoría de riesgo anestésico I ó II de la Sociedad de Anestesiólogos Americanos (ASA). Se depiló el tercio medio del surco yugular para ubicar el catéter endovenoso. Una vez puesto el catéter, se trasladó al potro a la sala de derribo, donde fue premedicado mediante la administración endovenosa de xilacina (0,8 mg/kg). La inducción anestésica se efectuó con la administración de ketamina (2,2 mg/kg) y diazepam (0,1 mg/kg) ambos por vía endovenosa. Para la

mantención del plano anestésico se utilizó una mezcla de oxígeno (4 L/min) y 3% de isoflurano.

4.2.4. Obtención y manejo de muestras

Se obtuvieron 6 muestras sanguíneas por animal, mediante venopunción yugular, recolectando en cada oportunidad 15 ml de sangre. La primera muestra (basal) se obtuvo previo a la cirugía, 15 minutos antes de la sedación. Las siguientes 5 muestras fueron postquirúrgicas, comenzando con una segunda muestra una vez finalizada la orquiectomía luego de la recuperación anestésica (determinada como el momento en que el equino se logra levantar y es capaz de sostener su peso sobre los cuatro miembros). A partir de esta muestra, se tomaron muestras seriadas a las 4, 8, 12 y 24 horas post-recuperación. La sangre destinada para la evaluación de cortisol se depositó en tubos sin anticoagulante, para glucemia en tubos con fluoruro de sodio y las muestras para hematología en tubos con EDTA.

En todo momento se intentó que ambos tratamientos estén bajo las mismas condiciones, para esto se realizaron las cirugías con una pauta de los tiempos a cumplir en las distintas etapas tanto de la pre-medicación, anestesia y procedimiento quirúrgico en sí, para luego realizar la obtención de muestras relativamente a las mismas horas en cada animal del estudio, con esto se pudo evitar efectos del ciclo circadiano al comparar resultados entre cada caballo. Aunque las cirugías fueran realizadas por distintos estudiantes, la manipulación y el tiempo fueron controlados en cada una de las orquiectomías, por lo que se puede considerar que los valores obtenidos sólo muestran el efecto causado por los distintos analgésicos.

4.2.5. Variables analizadas

Las variables bioquímicas sanguíneas y hematológicas analizadas fueron las siguientes:

- **Cortisol** (nmol/L): La concentración sérica de cortisol 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 el autoanalizador Wiener Lab Metrolab 2300[®] en muestras de plasma, mediante el método enzimático colorimétrico GOD-PAP.
- **Recuento de Eosinófilos y relación Neutrófilos:Linfocitos (N:L)** : Se realizó el recuento de leucocitos en el autoanalizador hematológico Sysmex KX-21N y el recuento diferencial celular se realizó manualmente en un frotis sanguíneo teñido mediante tinción Corzap[®]. El número absoluto de eosinófilos, neutrófilos y linfocitos se expresó en número de células/ μ L.

4.2.6. Análisis estadístico de los resultados

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, normalidad (prueba de Shapiro-Wilk) y homocedasticidad (prueba de Bartlett's). Los tratamientos fueron contrastados entre sí en un mismo tiempo de muestreo mediante la Prueba de T de Student para glucosa y la relación N:L, mientras que para cortisol y eosinófilos se utilizó Wilcoxon Rank Sum Test. Para contrastar las variaciones entre muestreos dentro de cada tratamiento se realizó un ANDEVA para muestras repetidas. Finalmente se relacionaron las variables por medio de la correlación de Spearman. Se estableció un nivel de significancia de $P < 0,05$.

5. RESULTADOS

Al comparar los promedios totales de ambos tratamientos, se establecieron diferencias significativas entre tratamientos para la variable cortisol y glucosa ($P < 0,05$), presentando el grupo Tramadol-Fenilbutazona concentraciones mayores que el grupo Fenilbutazona. Para las variables relación N:L y eosinófilos no se encontraron diferencias entre tratamientos ($P > 0,05$) (Anexo 9). Ambos tratamientos se encontraban balanceados, presentando equinos con similares promedios de edades y pesos, siendo 357 kg. y 4,5 años los promedios para el tratamiento Fenilbutazona y 354,4 kg. y 4,7 años los promedios del tratamiento Tramadol-Fenilbutazona (Anexo 1 y 2).

5.1. CORRELACIONES

En las variables estudiadas de cada tratamiento, sólo se encontró una baja correlación negativa entre cortisol y la relación N:L ($P < 0,05$) para el tratamiento Fenilbutazona (Tabla 1).

Tabla 1: Resultados de las correlaciones entre las variables sanguíneas cortisol, glucosa, relación neutrófilos:linfocitos (N:L) y recuento de eosinófilos de los equinos sometidos a orquiectomía con tratamientos analgésicos en base a Fenilbutazona o Tramadol-Fenilbutazona.

Asociaciones	Tratamiento			
	Fenilbutazona		Tramadol-Fenilbutazona	
	r	P	r	P
<i>Cortisol-Glucosa</i>	-0,0504	0,7166	-0,0639	0,6614
<i>Cortisol-N:L</i>	-0,3022	0,0267	0,2369	0,101
<i>Cortisol-Eosinófilos</i>	-0,1016	0,4634	-0,1036	0,4776
<i>Glucosa-N:L</i>	-0,0531	0,7018	0,0817	0,5756
<i>Glucosa-Eosinofilos</i>	-0,1225	0,3763	-0,0766	0,5997
<i>N:L-Eosinófilos</i>	0,0786	0,5706	-0,1083	0,4574

5.2. GLUCOSA

Los promedios de las concentraciones basales de glucosa de ambos tratamientos fueron similares y dentro del rango de referencia para la especie ($P>0,05$), con valores de $3,83 \pm 0,23$ mmol/L para el tratamiento Fenilbutazona y $4,08 \pm 0,15$ mmol/L para el tratamiento Tramadol-Fenilbutazona (Anexo 5).

No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos para cada tiempo de muestreo, como tampoco se encontraron fluctuaciones entre horas dentro de cada tratamiento ($P>0,05$). Los promedios de las concentraciones de glucosa del tratamiento Fenilbutazona se mantuvieron cercanas al rango inferior de referencia, mientras en el tratamiento Tramadol-Fenilbutazona los valores fueron levemente superiores con respecto a los del tratamiento Fenilbutazona. Estos valores se mantuvieron dentro del rango de referencia hasta las 12 horas post-recuperación, para presentar a las 24 horas post-recuperación una concentración de $5,44 \pm 0,51$ mmol/L, valor por sobre el rango de referencia (Figura 1).

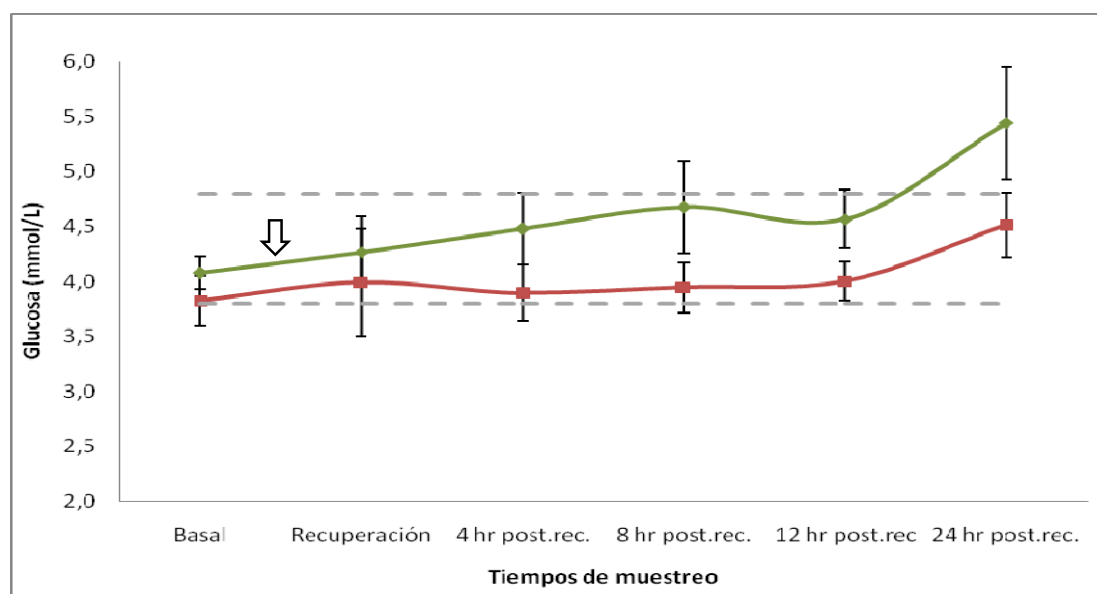


Figura 1. Variaciones de la concentración promedio de glucosa (mmol/L) (promedio \pm EE) en los equinos sometidos a orquiectomía, tratados con Fenilbutazona (-■-, n=10) y Tramadol-Fenilbutazona (-▲-, n=9) durante las horas de muestreo pre y post quirúrgico.

↓ Indica el momento de la orquiectomía.

-- Límite máximo y mínimo del rango de referencia para la especie.

5.3. CORTISOL

La concentración basal de cortisol sérico para el tratamiento Fenilbutazona y el tratamiento Tramadol-Fenilbutazona fue similar ($P>0,05$). Además, ambos valores se encontraron dentro del rango de referencia para la especie equina con valores de $128,45 \pm 12,77$ nmol/L para el tratamiento Fenilbutazona y $154,73 \pm 28,68$ nmol/L para el tratamiento Tramadol-Fenilbutazona (Anexo 6). Al comparar ambos tratamientos en cada tiempo de muestreo no se establecieron diferencias significativas ($P>0,05$).

Las concentraciones de cortisol sérico obtenidas para el tratamiento Fenilbutazona se mantuvieron constantes ($P>0,05$) y dentro del rango de referencia durante todo el estudio. Mientras en el tratamiento Tramadol-Fenilbutazona se observó un incremento en la concentración de cortisol sérico en el tiempo de recuperación con respecto al valor basal ($P<0,05$) presentando una concentración de $293,47 \pm 35,24$ nmol/L, valor sobre el rango de referencia máximo (Anexo 6), luego mantuvo las concentraciones de cortisol sérico dentro del rango de referencia desde el muestreo a las 4 horas post-recuperación hasta el muestreo a las 24 horas post-recuperación (Figura 2).

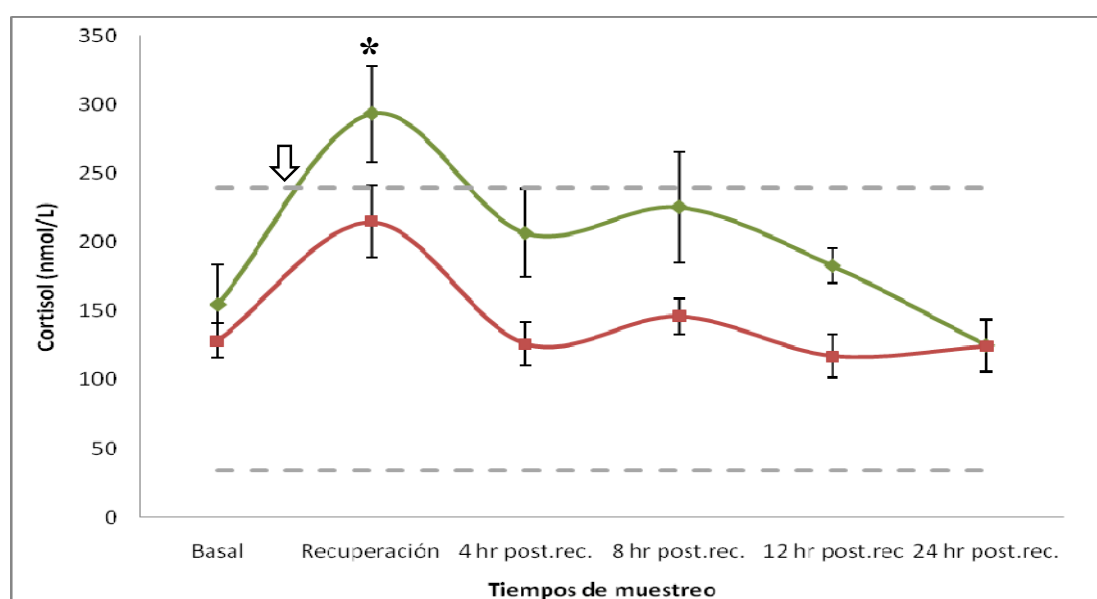


Figura 2. Variaciones de la concentración promedio de cortisol (nmol/L) (promedio \pm EE) en los equinos sometidos a orquiectomía, tratados con Fenilbutazona (-■-, n=10) y Tramadol-Fenilbutazona (-▲-, n=9) durante las horas de muestreo pre y post quirúrgico.

↓ Indica el momento de la orquiectomía.

- - Límite máximo y mínimo del rango de referencia para la especie.

* Diferencia entre la muestra tomada en el tiempo de recuperación con la muestra en la hora basal del tratamiento Tramadol-Fenilbutazona.

5.4. RELACIÓN NEUTRÓFILOS:LINFOCITOS (N:L)

La relación N:L basal para ambos tratamientos fue similar y dentro del rango de referencia ($P>0,05$), con un valor de $1,75 \pm 0,26$ para el tratamiento Fenilbutazona y $1,89 \pm 0,38$ para el tratamiento Tramadol-Fenilbutazona (Anexo 7). No se encontraron diferencias entre tratamientos para cada tiempo de muestreo, como tampoco se encontraron fluctuaciones entre horas dentro de cada tratamiento ($P>0,05$).

Los valores promedio del tratamiento Fenilbutazona se mantuvieron en todos los muestreos post-cirugía por sobre el tratamiento Tramadol-Fenilbutazona. Los valores promedio de la N:L del tratamiento Tramadol-Fenilbutazona se mantuvieron dentro del rango esperado en casi todo el muestreo, sólo a las 8 horas post-recuperación sobrepasó el rango máximo para la especie, no así el tratamiento Fenilbutazona que desde las 4 horas post-recuperación hasta las 12 horas post-recuperación superó el rango de referencia, volviendo dentro del rango de referencia en el último muestreo (Figura 3). Se estableció que la relación N:L presentó una desviación estándar amplia en cada muestreo (Anexo 7).

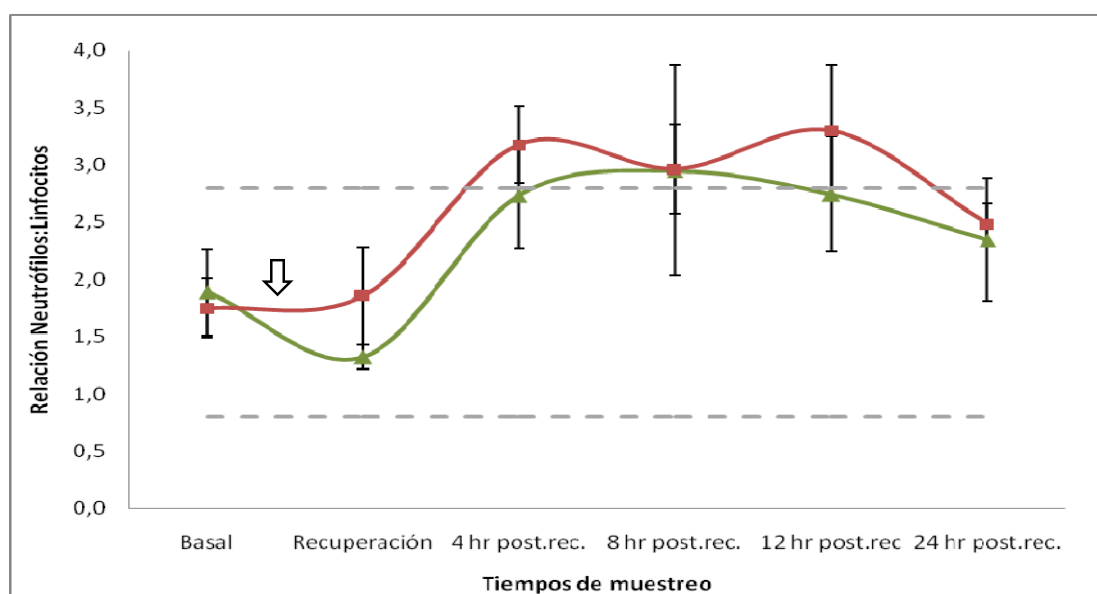


Figura 3. Valores promedio de la relación Neutrófilos:Linfocitos (promedio \pm EE) en los equinos sometidos a orquiectomía, tratados con Fenilbutazona (-■-, n=10) y Tramadol-Fenilbutazona (-▲-, n=9) durante las horas de muestreo pre y post quirúrgico.

⇩ Indica el momento de la orquiectomía.

-- Límite máximo y mínimo del rango de referencia para la especie.

5.5. EOSINÓFILOS

Para el caso de los eosinófilos no se encontraron diferencias entre tratamientos para cada tiempo de muestreo, como tampoco se encontraron fluctuaciones entre tiempos de muestreo dentro de cada tratamiento ($P>0,05$).

Los promedios basales de los tratamientos Fenilbutazona y Tramadol-Fenilbutazona se encontraron dentro del rango de referencia ($266,33 \pm 74,89$ cel/ μ L y $419,33 \pm 81,92$ cel/ μ L respectivamente (Anexo 8), y se mantuvieron entre los rangos de referencia para la especie durante todo el muestreo (Figura 4).

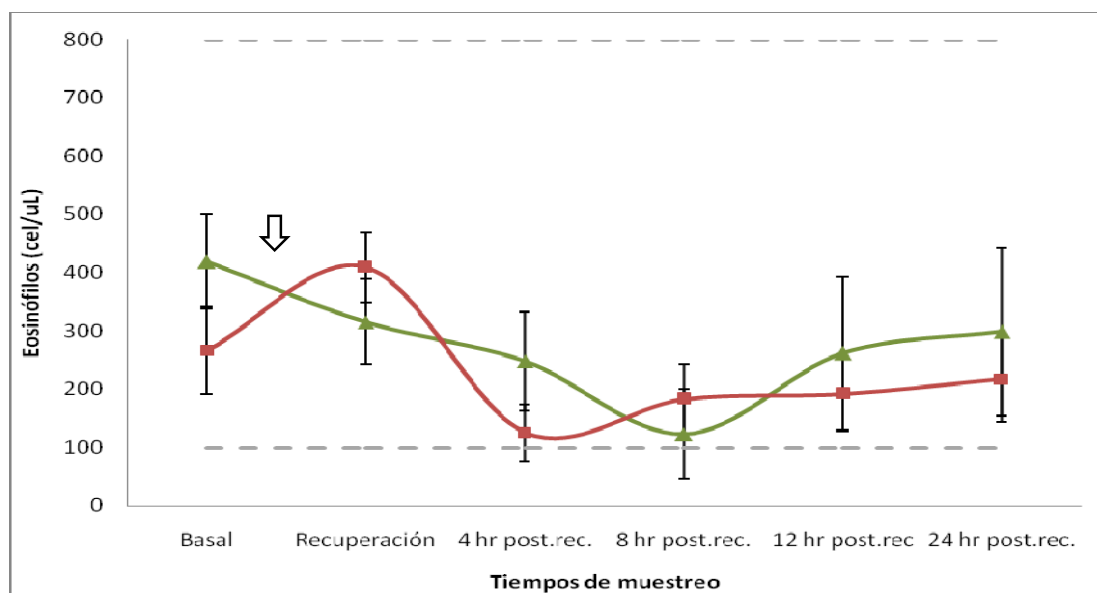


Figura 4. Valores promedio del recuento de eosinófilos (cel/ μ L) (promedio \pm EE) en los equinos sometidos a orquiectomía, tratados con Fenilbutazona (-■-, n=10) y Tramadol-Fenilbutazona (-▲-, n=9) durante las horas de muestreo pre y post quirúrgico.

⇩ Indica el momento de la orquiectomía.

-- Límite máximo y mínimo del rango de referencia para la especie.

6. DISCUSIÓN

6.1. GLUCOSA

En el grupo Tramadol-Fenilbutazona se observó un leve aumento en los promedios de las concentraciones de glucosa, siendo mayor al rango de referencia máximo en el último muestreo, sin encontrar diferencias significativas entre tiempos (Figura 1). Esto se puede deber al incremento de cortisol en este mismo grupo en el tiempo de recuperación, ya que como respuesta al estrés, el aumento de la concentración de glucosa es precedida por un incremento de la concentración de cortisol (Kannan y col 2000). Randall y col (2000) explicaron que esto sucede porque el cortisol actúa en el hígado, aumentando la síntesis de algunas enzimas que promueven la gluconeogénesis y la mayor parte de esta nueva glucosa se libera en el flujo sanguíneo, aumentando la glucemia.

A pesar de lo anteriormente descrito, no se observó una correlación entre el aumento de la concentración de cortisol y las concentraciones de glucosa (Tabla 1), por lo que se puede suponer que en el momento de recuperación, que fue cuando se produjo la mayor concentración de cortisol, no existió un estímulo lo suficientemente intenso y/o duradero como para provocar un aumento en las concentraciones de glucosa. Sanhoury y col (1992) compararon estímulos estresantes de diferente duración, estableciendo que el transporte por 20 minutos incrementa sólo las concentraciones de cortisol plasmático y no las de glucosa. En cambio, cuando el transporte superaba las 2 horas incrementaba tanto las concentraciones de glucosa como las de cortisol. Es así como la glucosa podría ser útil como un indicador de la intensidad del estrés (Sanhoury y col 1992). Posiblemente para el caso de este estudio, el aumento de la concentración de glucosa podría deberse a reanudación en la ingesta alimenticia ya que se observa en ambos grupos una tendencia a aumentar en el muestreo post 24 horas (Figura 1). Estas muestras fueron tomadas generalmente pasado el medio día, por lo que se cumpliría el efecto descrito por Glade y col (1984) en el cual la glucemia aumenta unas 3 horas post ingesta de alimento.

6.2. CORTISOL

Las concentraciones promedio de cortisol sérico obtenidas tanto en el grupo Fenilbutazona como Tramadol-Fenilbutazona, fueron similares a las concentraciones del grupo control del estudio de Cavallone y col (2002). En ese estudio, los equinos enfrentados al transporte presentaron concentraciones de cortisol sérico superiores a las obtenidas en el grupo control. El estrés de un proceso de transporte parece ser mayor al estrés debido al dolor producto de la orquiectomía. Concentraciones de cortisol sérico producto de dolor moderado a intenso podrían ser valores entre 168-234 nmol/L (Hinchcliff y col 2005), similares a los

valores obtenidos tanto en el grupo Fenilbutazona como en el Tramadol-Fenilbutazona. Hinchcliff y col (2005) observaron estos valores en caballos con cólico que lograron sobrevivir, mientras que los caballos que no sobrevivieron presentaron un rango entre 251-709 nmol/L, valores superiores debido a la presencia de dolor severo.

Las muestras obtenidas en el tiempo de recuperación revelan una alta concentración de cortisol, aunque los fármacos analgésicos pueden estar controlando el dolor y su efecto estresante, este aumento de cortisol podría deberse al estrés del proceso de anestesia. Muir (2002) evaluó el efecto de anestesia sin necesidad de realizar un procedimiento quirúrgico, observando que induce una respuesta de estrés en los animales, aumentando la concentración de ACTH, cortisol y epinefrina.

Las concentraciones de cortisol sérico del grupo Fenilbutazona (Anexo 6) coinciden con las obtenidas por Raekallio y col (1997), quienes evaluaron el grado de dolor y su asociación con la analgesia preventiva obtenida con fenilbutazona (4 mg/kg) en caballos sometidos a artroscopias. Dichos autores establecieron que las concentraciones de cortisol presentaron una tendencia a ser mayores en el grupo placebo que en el grupo fenilbutazona durante las primeras 12 horas post-cirugía. Paralelamente, estos autores no observaron diferencias en las concentraciones de catecolaminas y beta-endorfinas, pero el índice de severidad de dolor post-operatorio fue mayor en el grupo placebo. Por lo tanto una dosis de 3 mg/kg como 4 mg/kg de fenilbutazona cumplen su función analgésica.

Las tendencias a concentraciones de cortisol más bajas post-cirugía para el tratamiento Fenilbutazona que para Tramadol-Fenilbutazona podrían explicarse a que la dosis en el grupo Fenilbutazona fue más efectiva que la asociación Tramadol-Fenilbutazona para disminuir la inflamación. Stafford y col (2002) sostienen que los medicamentos antiinflamatorios también reducen la respuesta del cortisol en plasma después de la castración del ganado, por lo que la fenilbutazona por si misma puede reducir la concentración de cortisol en los distintos tratamientos, siendo más efectiva en el grupo en que se usó en mayor dosis.

Al utilizar 2 fármacos que inhiben la vía del dolor en distintas etapas de la nocicepción, se puede esperar que la combinación tenga más beneficios ya que disminuyen las dosis administradas de cada fármaco, además de sus efectos adversos (Wei-Wu y col 1999). En el presente estudio el grupo Fenilbutazona presenta una concentración de cortisol menor que el grupo Tramadol-Fenilbutazona, aparentemente el grupo fenilbutazona presentó menor estrés asociado al dolor. Esto coincide con el resultado final del trabajo realizado por Sanz y col (2009), que obtuvo el mismo efecto analgésico aparente entre butorfanol y fenilbutazona por separado, mientras que la combinación de butorfanol y fenilbutazona no fue aparentemente superior a alguno de los otros analgésicos por si solos.

Lo anteriormente señalado concuerda con el estudio de Pibarot y col (1997), donde los perros que recibieron sólo ketoprofeno tuvieron un mayor nivel de analgesia y más duradero que los perros que recibieron sólo oximorfona o butorfanol. Además, exceptuando la primera hora después de cirugía, el grupo ketoprofeno obtuvo un puntaje de dolor y una concentración plasmática de cortisol más baja o similar a los grupos con butorfanol u oximorfona. Por otra

parte, en dicho estudio la combinación de ketoprofeno y oximorfona no provocó una analgesia adicional comparada con ketoprofeno sólo.

Pibarot y col (1997) mencionan una posible interacción farmacocinética entre ambos fármacos, debido a que el ketoprofeno y los opioides como oximorfona tienen una alta afinidad de unión a proteínas plasmáticas, lo que podría aumentar la cantidad de ketoprofeno libre disponible para la eliminación. La administración de otro AINE con un opioide podría tener similar efecto, como es el caso de la combinación de fenilbutazona y tramadol. Además, se debe tener en cuenta que la falta de metabolitos activos M1 en equinos y la corta vida media del tramadol sugiere que este fármaco podría ser menos efectivo en equinos, pero se necesitan mayores estudios para corroborar esta idea (Shilo y col 2007).

6.3. RELACIÓN NEUTRÓFILOS:LINFOCITOS (N:L)

En los diferentes muestreos realizados tanto en el grupo Fenilbutazona como en Tramadol-Fenilbutazona, no fue posible detectar ningún cambio en la relación N:L con respecto a los valores basales. Este resultado no concuerda con lo descrito en equinos por Stover y col (1998) donde después de un proceso de anestesia y cirugía se observa neutrofilia y linfopenia, como tampoco concuerda con el estudio realizado en perros por Siracusa y col (2008), donde la relación N:L aumentó aproximadamente 4 veces el valor basal en el momento en que el animal experimenta el mayor desafío debido a la inflamación y estrés postoperatorio. Estas diferencias se pueden deber a que el grado de estrés inducido por el dolor post operatorio en las castraciones no fue de la duración ni intensidad suficiente para producir un cambio en la relación N:L de los equinos.

Fisher y col (1997) indican que la inmunosupresión inducida por el cortisol depende de la frecuencia, intensidad y duración de las concentraciones circulantes de éste, por lo que la relación N:L podría ser un indicador más confiable de estrés crónico que la concentración de cortisol (Gross y Siegel 1983, Stull y Rodiek 2002). Los cambios observados en el recuento de leucocitos y la relación N:L en el trabajo de Stull y Rodieck (2002) ocurren pasado el segundo día de estrés. Si el estrés producido por el proceso de castración tuviera un efecto a largo plazo en este parámetro, podría notarse realizando más muestreos hasta completar 48 horas post cirugía.

Asimismo, debido a la amplia desviación estándar de los resultados obtenidos en la N:L, no fue posible encontrar una tendencia marcada en cada uno de los tratamientos, quizás un número de caballos mayor podría haber mostrado un efecto más evidente del estrés postquirúrgico.

Por lo demás, los AINE tienen una acción específica en las moléculas de adhesión de leucocitos que impide el reclutamiento de neutrófilos durante la inflamación (Gómez-Gavira y col 2000), posiblemente la incorporación de fenilbutazona en ambos protocolos evitó que se observaran cambios en la relación N:L. De esta manera, la baja correlación existente entre

cortisol y la relación N:L (Tabla 1), pudo deberse a que el aumento de la concentración de cortisol aunque sólo fue significativa en el grupo Tramadol-Fenilbutazona, no logró provocar un cambio en la respuesta inmune debido al efecto producido por la fenilbutazona (AINE).

6.4. EOSINÓFILOS

Está descrito que en respuesta al estrés agudo se espera observar eosinopenia (Broom y Kirkden 2004), pero en este estudio no se encontraron diferencias entre tratamientos ni entre horas de muestreos, como tampoco existió una tendencia clara (Figura 4). Esto discrepa con el estudio de Siracusa y col (2008), que evaluaron el efecto del estrés perioperatorio en 16 perros sometidos a orquiectomía u ovariectomía según el caso, observando una disminución del número de linfocitos y eosinófilos que se limitó al periodo postoperatorio inmediato retornando a valores basales 24 horas post cirugía. Quizás esto podría ser más evidente al aumentar el número de animales del presente estudio, pues debido a la amplia desviación estándar no se pudo observar alguna tendencia clara en los resultados. Por otro lado, la eosinopenia provocada por estrés ha sido observada en algunos experimentos en que existe una marcada eosinofilia previo a la exposición al estrés como ocurre en el trabajo de Bass (1975), donde al exponer a ratones con triquinosis frente a un proceso de inflamación aguda, disminuye drásticamente el recuento de eosinófilos, en menos de 24 horas.

La respuesta de los linfocitos y los eosinófilos parece relacionada con aumento de glucocorticoides en vez de daño tisular (Stockham y col 2003), por lo que en este estudio el aumento de glucocorticoides no fue lo suficientemente elevado para provocar un cambio en el recuento de eosinófilos, lo que hace suponer que ambos grupos de tratamientos están cumpliendo su función analgésica.

6.5. CONCLUSIONES

Del presente estudio se pueden obtener las siguientes conclusiones:

- La administración preoperatoria de Tramadol más Fenilbutazona en potros, mantiene sin variaciones y dentro del rango de referencia la concentración de glucosa, relación neutrófilos:linfocitos y recuento de eosinófilos, a excepción de la concentración de cortisol.
- La administración preoperatoria de fenilbutazona mantiene sin variaciones y dentro del rango de referencia las variables evaluadas.
- Los caballos castrados y tratados con la combinación Tramadol-Fenilbutazona presentaron mayor estrés en el periodo postquirúrgico, asociado a mayores concentraciones de cortisol que los tratados con Fenilbutazona.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Anon A. 1983. International Association for the Study of Pain (IASP). *Pain* 16, 31-32.
- Bass DA. 1975. Behavior of Eosinophil Leukocytes in Acute Inflammation. *J Clin Invest* 56, 870-879.
- Broom DM. 2003. Causes of poor welfare in large animals during transport. *Vet Res Commun* 27, 515-518.
- Broom DM, KG Johnson. 1993. Stress and animal welfare. Chapman and Hall. Dordrecht, London, UK, Pp 211.
- Broom DM, RD Kirkden. 2004. Welfare, stress, behaviour and pathophysiology. In: RH Dunlop and CH Malbert (eds). *Veterinary Pathophysiology*. Blackwell, Ames, Iowa, USA, Pp 337-369.
- Cadavid A, G Gaviria. 2005. Dolor postoperatorio. En: Cadavid A, J Estupiñán, J Jairo (eds). *Dolor y cuidados paliativos*. Corporación para Investigaciones Biológicas. Medellín, Colombia, Pp 97-111.
- Cavallone E, M Di Giancamillo, B Secchiero, A Belloli, D Pravettoni, EM Rimoldi. 2002. Variations of serum cortisol in Argentine horses subjected to ship transport and adaptation stress. *J Equine Vet Sci* 22, 541-545.
- Cunningham J. 2003. Utilización de los nutrientes tras la absorción. En: *Fisiología Veterinaria*. 3^a ed. Elsevier, Madrid, España, Pp 305-322.
- Dhabhar FS, B McEwen. 1997. Acute stress enhances, while chronic stress suppresses, immune function in vivo: a potential role for leukocyte trafficking. *Brain Behav Immun* 11, 286-294.
- Doherty T, Valverde A. 2006. Pharmacology of drugs used in equine Anesthesia. In: Doherty T, Valverde A (eds). *Manual of equine anesthesia and analgesia*. Blackwell, Oxford, England, Pp 128-205.
- Fisher AD, MA Crowe, EM O’Nualláin, ML Monaghan, DJ Prendiville, P O’Kiely, WJ Enright. 1997. Effects of suppressing cortisol following castration of bull calves on adrenocorticotrophic hormone, in vitro interferon-production, leukocytes, acute-phase proteins, growth, and feed intake. *J Anim Sci* 75, 1899-1908.

- Flórez J. 1997. Fármacos analgésicos opioides. En: Flórez J (ed). *Farmacología Humana*. 3^a ed. Masson, Barcelona, España, Pp 435-452.
- Glade MJ, S Gupta, TJ Reimers. 1984. Hormonal responses to high and low planes of nutrition in weanling thoroughbreds. *J Anim Sci* 59, 658-665.
- Gómez-Gaviro MV, C Domínguez-Jiménez, JM Carretero, P Sabando, I González-Alvaro, F Sánchez-Madrid, F Díaz-González. 2000. Down-regulation of L-selectin expression in neutrophils by nonsteroidal anti-inflammatory drugs: Role of intracellular ATP concentration. *Blood* 96, 3592-3600.
- Grandin T. 1997. Assessment of stress during handling and transport. *J Anim Sci* 75, 249-257.
- Green P. 2001. Castration techniques in the horse. *Equine pract* 5, 250-261.
- Grond S, Sablotzki A. 2004. Clinical pharmacology of tramadol. *Clin Pharmacokinet* 43, 879-923.
- Gross WB, Siegel HS. 1983. Evaluation of the heterophil/lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens. *Avian Dis* 27, 972-979.
- Guerrero M, J González. 2002. Manejo del dolor agudo. En: Guerrero M, J González, H Lacassie (eds). *Dolor; Aspectos básicos y clínicos*. Ediciones Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile, Pp 43-64.
- Guerrero M, P Oliva. 2002. Fármacos Analgésicos. En: Guerrero M, J González, H Lacassie (eds). *Dolor; Aspectos básicos y clínicos*. Ediciones Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile, Pp 127-155.
- Hinchcliff KW, BR Rush, JW Farris. 2005. Evaluation of plasma catecholamine and serum cortisol concentrations in horse with colic. *J Am Vet Med Assoc* 227, 276-280.
- Irvine CH G, SL Alexander. 1994. Factors affecting the circadian rhythm in plasma cortisol concentration in horse. *Domest Anim Endocrinol* 11, 227-238.
- James VH, MW Horner, MS Moss, AE Rippon. 1970. Adrenocortical function in the horse. *J Endocrinol* 48, 319-335.
- Jairo J. 2005. Fisiopatología del dolor. En: Cadavid A, J Estupiñán, J Jairo (eds). *Dolor y cuidados paliativos*. Corporación para Investigaciones Biológicas. Medellín, Colombia, Pp 15-24.
- Kannan G, TH Terrill, B Kouakou, OS Gazal, S Gelaye, EA Amoah, S Samaké. 2000. Transportation of goats: effects on physiological stress responses and live weight loss. *J Anim Sci* 78, 1450-1457.

- Khansari DN, AJ Murgo, RE Faith. 1990. Effects of stress on the immune system. *Immunol Today* 11, 170-175.
- Kukanich B, MG Papich. 2004. Pharmacokinetics of tramadol and the metabolite O-desmethyltramadol in dogs. *J Vet Pharmacol Therap* 27, 239-246.
- Lay DC, TH Friend, CL Bowers, KK Grissom, OC Jenkins. 1992. A comparative physiological and behavioral study of freeze and hot-iron branding using in dairy cows. *J Anim Sci* 70, 1121.
- Lintz W, S Erlacin, E Frankus, H Uragg. 1981. Biotransformation of tramadol in man and animal. *Drug Res* 31, 1932-1943.
- Lizárraga I, H Sumano. 1998. Bases farmacológicas del uso de antiinflamatorios no esteroidales en caballos. *Vet Méx* 29, 83-99.
- Martín-Jimenes T, M Papich. 2002. Prostaglandinas y antiinflamatorios no esferoidales. En: Botana L, F Landoni, T Martín-Jimenes (eds). *Farmacología y terapéutica veterinaria*. Mc Graw Hill. Madrid, España, Pp 355-370.
- McEwen BS. 1999. Stress and hippocampal plasticity. *Annu Rev Neurosci* 22, 105-122.
- Miller DB, JP O'Callaghan. 2002. Neuroendocrine aspects of the response to stress. *Metabolism* 51, 5-10.
- Molony V, JE Kent. 1997. Assessment of acute pain in farm animals using behavioural and physiological measurements. *J Anim Sci* 75, 266-272.
- Moore-Ede MC, FM Sulzman. 1977. The physiological basis of circadian time-keeping in primates. *Physiologist* 20, 17-25.
- Morris DD, SM Large. 1990. Alterations in the Leukogram. In: BP Smith (ed.) *Large Animal Internal Medicine*. CV Mosby Co. St Louis, MO, USA, Pp 425.
- Muir WW. 2002. Pain and stress. In: Gaynor JS, Muir WW (ed). *Handbook of Veterinary Pain Management*. Philadelphia, Mosby, USA, Pp 46-59.
- Munck A, P Guyre, N Holbrook. 1984. Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relationship 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. *Am J Vet Res* 61, 1579-1586.
- Noble RE. 2002. Diagnosis of stress. *Metabolism* 51, 37-39.

- Pibarot P, J Dupuis, E Griseaux, S Cuvelliez, J Plante, G Beauregard, NH Bonneau, J Bouffard, D Blais. 1997. Comparison of ketoprofen, oxymorphone hydrochloride, and butorphanol in the treatment of post-operative pain in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 211, 438-444.
- Picard P, JE Bazin, N Conio, F Ruiz, P Schoeffeler. 1997. Ketorolac potentiates morphine in postoperative patient-controlled analgesia. *Pain* 73, 401-406.
- 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.
- Randall D, W Burggren, K French. 2000. Eckert Animal Physiology. Mechanism and adaptations. 4th ed. Freeman, New York, USA, Pp. 301-349.
- Raynaert R, M De Paepe, G Peeters. 1976. Influence of stress, age and sex on serum growth hormone and free fatty acids in cattle. *Horm Metab Res* 8, 109-114.
- Sanhoury AA, RS Jones, H Dobson. 1992. Effects of xylazine on the stress response to transport in male goats. *Br Vet J* 148, 119-128.
- Sanhueza J. 2005. Comparación de los efectos analgésicos y cardiorrespiratorios de la infusión intraoperatoria de fentanilo versus tramadol, en perras (*canis familiaris*) sometidas a ovariectomía anestesiadas con isofluorano. Tesis de grado. Facultad de Recursos Naturales. Escuela de Medicina Veterinaria. Universidad Católica de Temuco. Chile.
- Sanz MG, DC Sellon, JA Cary, MT Hines, KD Farnsworth. 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.
- Selye H. 1936. A syndrome produced by diverse nocuous agents. *Nature* 138, 32.
- 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.
- Siracusa C, X Manteca, J Cerón, S Martínez-Subiela, R Cuenca, S Lavín, F García, J Pastor. 2008. Perioperative stress response in dogs undergoing elective surgery: variations in behavioural, neuroendocrine, immune and acute phase responses. *Anim Welfare* 17, 259-273
- Smith H. 2003. Miscellaneous analgesic agents. In: Smith HS (ed). *Drugs for pain*. Hanley & Belfus Inc, Philadelphia, USA, Pp 271-288.

- Stafford KJ, DJ Mellor, SE Todd, NG Gregory, RA Bruce, RN Ward. 2002. Effects of local anesthesia or local anesthesia and nonsteroidal anti-inflammatory drug on cortisol responses of calves to castration by five different methods. *Res Vet Sci* 73, 61-70.
- Stockham SL, KS Keeton, B Szlatovits. 2003. Clinical assessment of leukocytosis: distinguishing leukocytoses caused by inflammatory, glucocorticoid, physiologic and leukemic disorders or conditions. *Vet Clin N Am: Small Anim Pract* 33, 1335-1357.
- Stover SM, EP Steffey, NO Dybdal, CE Franti. 1998. Hematologic and serum biochemical alterations associated with multiple halothane anesthesia exposures and minor surgical trauma in horses. *Am J Vet Res* 49, 236-241.
- Stull CL, AV Rodiek. 2002. Effects of cross-tying horses during 24 h of road transport. *Equine Vet J* 34, 550-555.
- 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.
- Tobin T, JW Blake, R Valentine. 1977. Drug interactions in the horse: effects of chloramphenicol, quinidine, and oxyphenbutazone on phenylbutazone metabolism. *Am J Vet Res* 38, 123-127.
- Tobin T, S Chay, S Kamerling, WE Woods, TJ Weckman, JW Blake, P Lees. 1986. Phenylbutazone in horse: a review. *J Vet Pharmacol Ther* 9, 1-25.
- Wei-Wu P, SM Martin, K Ming-Chou, HH Min. 1999. Patient-controlled analgesia with morphine plus lysine acetyl salicylate. *Anesth Analg* 89, 995-998.
- Werner M. 2006. Efectos del transporte y manejo pre-sacrificio sobre las concentraciones de algunos constituyentes sanguíneos relacionados con stress en equinos. Tesis de magíster. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad Austral de Chile. Chile.
- Wideman GL, M Keffer, E Morris, RT Doyle, JG Jiang, WT Beaver. 1999. Analgesic efficacy of a combination of hydrocodone with ibuprofen in postoperative pain. *Clin Pharmacol Ther* 65, 66-76.
- Wu WN, LA McKown, AD Gauthier, WJ Jones, RB Raffa. 2001. Metabolism of the analgesic drug, tramadol hydrochloride, in rat and dog. *Xenobiótica* 31, 423-441.
- 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.

8. ANEXOS

Anexo 1: Peso (Kg), edad (años) y promedios de los equinos tratados con Fenilbutazona y sometidos a orquiectomía.

Tratamiento	Equino	Peso (Kg)	Edad (años)
Fenilbutazona	1	360	5
	2	330	7
	3	350	5
	4	390	3
	5	350	8
	6	310	5
	7	400	4
	8	380	2
	9	400	4
	10	300	2
Promedio		357	4,5

Anexo 2: Peso (Kg), edad (años) y promedios de los equinos tratados con Tramadol-Fenilbutazona y sometidos a orquiectomía.

Tratamiento	Equino	Peso (Kg)	Edad (años)
Tramadol-Fenilbutazona	1	400	4
	2	390	7
	3	410	5
	4	290	4
	5	300	5
	6	345	3
	7	330	5
	8	420	4
	9	305	5
Promedio		354,4	4,7

Anexo 3: Valores obtenidos en las variables cortisol sérico, glucosa, neutrófilos, linfocitos, relación neutrófilos:linfocitos (N:L) y eosinófilos por muestreo y en cada uno de los potros en los muestreos del tratamiento con Fenilbutazona (n=10).

<i>Caballo</i>	<i>Muestreo</i>	<i>Cortisol (nmol/L)</i>	<i>Glucosa (mmol/L)</i>	<i>Neutrófilos (cel/μL)</i>	<i>Linfocitos (cel/μL)</i>	<i>N:L</i>	<i>Eosinófilos (cel/μL)</i>
1	Basal	85,17	2,36	4620	3108	1,49	252
	Recuperación	129,87	3,18	4233	3403	1,24	498
	4 Hr post-rec.	34,63	3,38	6225	1826	3,41	166
	8 Hr post-rec.	82,77	4,38	5963	2047	2,91	178
	12 Hr post-rec.	68,84	4,33	5865	1955	3,00	0
	24 Hr post-rec.	57,69	6,19	6996	2438	2,87	0
2	Basal	173,82	3,50	5544	2376	2,33	528
	Recuperación	250,68	2,20	6695	2575	2,60	206
	4 Hr post-rec.	117,42	3,44	8906	2684	3,32	122
	8 Hr post-rec.	201,68	3,44				
	12 Hr post-rec.	70,93	4,13	10043	1331	7,55	484
	24 Hr post-rec.	121,98	4,58	8378	2478	3,38	236
3	Basal	120,90	3,95	4600	4100	1,12	500
	Recuperación	162,26	3,37	2600	5300	0,49	600
	4 Hr post-rec.	111,88	3,42	6400	2000	3,20	0
	8 Hr post-rec.	139,61	3,22	6300	3600	1,75	0
	12 Hr post-rec.	130,72	2,78	6500	1600	4,06	300
	24 Hr post-rec.	122,33	3,52	5200	2400	2,17	500
4	Basal	88,89	3,40	4900	1600	3,06	600
	Recuperación	151,83	3,42	5000	1700	2,94	500
	4 Hr post-rec.	88,45	2,94	5600	2200	2,55	100
	8 Hr post-rec.	112,65	3,28	9200	1800	5,11	500
	12 Hr post-rec.	125,64	3,88	7800	3000	2,60	100
	24 Hr post-rec.						
5	Basal	159,47	4,45	2500	4100	0,61	100
	Recuperación	182,04	5,05	3200	3700	0,86	300
	4 Hr post-rec.	176,19	4,53	6600	3200	2,06	100
	8 Hr post-rec.	156,93	4,28	8600	3000	2,87	200
	12 Hr post-rec.	146,36	4,45	7400	2600	2,85	0
	24 Hr post-rec.	138,17	4,63	6500	3200	2,03	0
6	Basal	211,70	3,30	3819	2412	1,58	0
	Recuperación	306,17	2,73				
	4 Hr post-rec.	179,83	4,22	6862	2256	3,04	0
	8 Hr post-rec.	165,48	3,17	3445	1802	1,91	53
	12 Hr post-rec.			8100	1900	4,26	0
	24 Hr post-rec.	134,00	3,84	3139	1075	2,92	86

7	Basal	109,50	4,30	2808	2484	1,13	54
	Recuperación	326,78	4,87				
	4 Hr post-rec.	171,14	3,17	6696	2232	3,00	0
	8 Hr post-rec.	218,40	3,92	6417	2790	2,30	0
	12 Hr post-rec.	169,13	4,13	5757	4040	1,43	0
	24 Hr post-rec.	139,80	3,56	5185	2975	1,74	85
8	Basal	116,65	4,70	4224	1728	2,44	256
	Recuperación	342,01	7,63	3480	2160	1,61	300
	4 Hr post-rec.	178,04	5,34	6723	1215	5,53	0
	8 Hr post-rec.	121,84	3,67	5644	2490	2,27	83
	12 Hr post-rec.	195,92	3,94	3774	3404	1,11	222
	24 Hr post-rec.	252,70	4,04	5676	2064	2,75	602
9	Basal	108,13	4,56				
	Recuperación	140,43	4,08	3850	3388	1,14	231
	4 Hr post-rec.	112,02	5,01	5664	3456	1,64	288
	8 Hr post-rec.	145,23	5,21	7100	2400	2,96	200
	12 Hr post-rec.	71,35	4,56	7280	2600	2,80	312
	24 Hr post-rec.	86,30	5,33	5332	2838	1,88	344
10	Basal	110,25	3,73	6955	3531	1,97	107
	Recuperación	156,93	3,40	5760	1440	4,00	640
	4 Hr post-rec.	93,56	3,51	12084	3021	4,00	477
	8 Hr post-rec.	119,44	4,90	11154	2431	4,59	429
	12 Hr post-rec.	78,11	3,83	10000	3000	3,33	500
	24 Hr post-rec.	67,87	4,95	7000	2700	2,59	100

* Los casilleros en blanco se deben a que la muestra se deterioró, por lo que no se pudo determinar ningún valor.

Anexo 4: Valores obtenidos en las variables cortisol sérico, glucosa, neutrófilos, linfocitos, relación neutrófilos:linfocitos (N:L) y eosinófilos por muestreo y en cada uno de los potros en los muestreos del tratamiento con Tramadol-Fenilbutazona (n=9).

<i>Caballo</i>	<i>Muestreo</i>	<i>Cortisol (nmol/L)</i>	<i>Glucemia (mmol/L)</i>	<i>Neutrófilos (cel/μL)</i>	<i>Linfocitos (cel/μL)</i>	<i>N:L</i>	<i>Eosinófilos (cel/μL)</i>
1	Basal	90,77	4,28	7700	1900	4,05	700
	Recuperación	344,05	4,83	5700	3600	1,58	800
	4 Hr post-rec.	154,17	4,94	7800	3300	2,36	700
	8 Hr post-rec.	152,88	5,33	10100	4000	2,53	100
	12 Hr post-rec.	141,12	5,59	12200	2500	4,88	200
	24 Hr post-rec.	242,35	8,96	14000	2600	5,38	0
2	Basal	210,82	4,28	4300	2700	1,59	200
	Recuperación	279,02	3,44	4100	3700	1,11	300
	4 Hr post-rec.	332,51	4,08	5400	2300	2,35	400
	8 Hr post-rec.	422,04	4,78	9100	2700	3,37	0
	12 Hr post-rec.	200,08	3,95	7400	2200	3,36	200
	24 Hr post-rec.	142,89	5,87	2500	1200	2,08	0
3	Basal	96,43	3,96	3000	3400	0,88	200
	Recuperación	152,30	4,56	2900	3200	0,91	300
	4 Hr post-rec.	147,72	3,89	4600	1900	2,42	0
	8 Hr post-rec.						
	12 Hr post-rec.						
	24 Hr post-rec.	36,03	4,17	3700	3500	1,06	500
4	Basal	90,52	3,45	5300	4200	1,26	800
	Recuperación	179,53	5,09	4500	4000	1,13	200
	4 Hr post-rec.	161,65	4,44	6300	4400	1,43	300
	8 Hr post-rec.	130,17	5,76	4800	7500	0,64	100
	12 Hr post-rec.	179,72	5,11	3300	3800	0,87	100
	24 Hr post-rec.	95,52	5,83	4400	4500	0,98	400
5	Basal	91,96	3,74	6716	2116	3,17	276
	Recuperación	284,59	4,38	5626	3880	1,45	0
	4 Hr post-rec.	177,13	6,36	9360	3380	2,77	0
	8 Hr post-rec.	206,35	4,50	4600	4232	1,09	92
	12 Hr post-rec.	242,79	4,21	8100	2484	3,26	108
	24 Hr post-rec.	139,69	5,54	7684	3390	2,27	113
6	Basal	220,53	3,61	3960	3960	1,00	704
	Recuperación	360,52	3,17	6344	3640	1,74	312
	4 Hr post-rec.	254,90	3,36	9282	2142	4,33	238
	8 Hr post-rec.						
	12 Hr post-rec.	183,31	4,47	7739	2507	3,09	109
	24 Hr post-rec.	124,57	5,01	8379	3192	2,63	1197

7	Basal	332,96	4,37	5304	2028	2,62	312
	Recuperación	509,45	3,31	5130	3060	1,68	360
	4 Hr post-rec.	387,23	4,42	10126	1830	5,53	0
	8 Hr post-rec.	307,55	5,17	10125	2125	4,76	0
	12 Hr post-rec.						
	24 Hr post-rec.	157,10	5,50				
8	Basal	168,82	4,07	2706	3366	0,80	198
	Recuperación	243,45	3,59	2508	2679	0,94	171
	4 Hr post-rec.	110,30	3,36	4810	2072	2,32	74
	8 Hr post-rec.	133,87	2,32	2967	3105	0,96	0
	12 Hr post-rec.	152,77	3,62	3740	2380	1,57	68
	24 Hr post-rec.	97,61	4,52	2684	2867	0,94	61
9	Basal	89,78	4,93	5280	3264	1,62	384
	Recuperación	288,43	6,04	5300	3900	1,36	400
	4 Hr post-rec.	134,31	5,46	6026	5633	1,07	524
	8 Hr post-rec.	226,46	4,87	10366	1420	7,30	568
	12 Hr post-rec.	180,88	5,03	6032	2784	2,17	1044
	24 Hr post-rec.	90,03	3,58	8568	2499	3,43	119

* Los casilleros en blanco se deben a que la muestra se deterioró, por lo que no se pudo determinar ningún valor.

Anexo 5: Promedio (mmol/L), desviación estándar (DE), error estándar (EE) e índice de correlación (IC) de las concentraciones de glucosa para los equinos sometidos a orquiectomía, tratados con Fenilbutazona (n=10) y con Tramadol-Fenilbutazona (n=9).

<i>Fenilbutazona</i>	Muestra	Promedio	DE	EE	IC
	Basal	3,83	0,72	0,23	0,45
	Recuperación	3,99	1,55	0,49	0,96
	Post 4 Hr	3,90	0,82	0,26	0,51
	Post 8 Hr	3,95	0,72	0,23	0,45
	Post 12 Hr	4,00	0,52	0,17	0,34
	Post 24 Hr	4,52	0,88	0,29	0,58
<i>Tramadol-Fenilbutazona</i>	Muestra	Promedio	DE	EE	IC
	Basal	4,08	0,45	0,15	0,30
	Recuperación	4,27	0,97	0,32	0,63
	Post 4 Hr	4,48	0,98	0,33	0,64
	Post 8 Hr	4,68	1,12	0,42	0,83
	Post 12 Hr	4,57	0,70	0,27	0,52
	Post 24 Hr	5,44	1,53	0,51	1,00

Anexo 6: Promedio (nmol/L), desviación estándar (DE), error estándar (EE) e índice de correlación (IC) de las concentraciones de cortisol sérico para los equinos sometidos a orquiectomía, tratados con Fenilbutazona (n=10) y con Tramadol-Fenilbutazona (n=9).

<i>Fenilbutazona</i>	Muestra	Promedio	DE	EE	IC
	Basal	128,45	40,40	12,77	25,04
	Recuperación	214,90	83,16	26,30	51,55
	Post 4 Hr	126,32	48,81	15,43	30,25
	Post 8 Hr	146,40	41,21	13,03	25,54
	Post 12 Hr	117,45	47,58	15,86	31,08
	Post 24 Hr	124,54	57,10	19,03	37,31
<i>Tramadol-Fenilbutazona</i>	Muestra	Promedio	DE	EE	IC
	Basal	154,73	86,03	28,68	56,21
	Recuperación	293,47	105,73	35,24	69,08
	Post 4 Hr	206,66	96,45	32,15	63,01
	Post 8 Hr	225,61	106,84	40,38	79,15
	Post 12 Hr	182,95	33,04	12,49	24,47
	Post 24 Hr	125,09	57,11	19,04	37,31

Anexo 7: Promedio, desviación estándar (DE), error estándar (EE) e índice de correlación (IC) de la relación Neutrófilos:Linfocitos para los equinos sometidos a orquiectomía, tratados con Fenilbutazona (n=10) y con Tramadol-Fenilbutazona (n=9).

<i>Fenilbutazona</i>	Muestra	Promedio	DE	EE	IC
	Basal	1,75	0,77	0,26	0,50
	Recuperación	1,86	1,20	0,43	0,83
	Post 4 Hr	3,18	1,07	0,34	0,66
	Post 8 Hr	2,96	1,16	0,39	0,76
	Post 12 Hr	3,30	1,79	0,57	1,11
	Post 24 Hr	2,48	0,55	0,18	0,36
<i>Tramadol-Fenilbutazona</i>	Muestra	Promedio	DE	EE	IC
	Basal	1,89	1,14	0,38	0,74
	Recuperación	1,32	0,31	0,10	0,20
	Post 4 Hr	2,73	1,39	0,46	0,91
	Post 8 Hr	2,95	2,43	0,92	1,80
	Post 12 Hr	2,74	1,33	0,50	0,98
	Post 24 Hr	2,35	1,51	0,54	1,05

Anexo 8: Promedio (células/ μ L), desviación estándar (DE), error estándar (EE) e índice de correlación (IC) del recuento de Eosinófilos para los equinos sometidos a orquiectomía, tratados con Fenilbutazona (n=10) y con Tramadol-Fenilbutazona (n=9).

<i>Fenilbutazona</i>	Muestra	Promedio	DE	EE	IC
	Basal	266,33	224,66	74,89	146,78
	Recuperación	409,38	170,17	60,16	117,92
	Post 4 Hr	125,30	154,89	48,98	96,00
	Post 8 Hr	182,56	178,71	59,57	116,75
	Post 12 Hr	191,80	200,83	63,51	124,48
	Post 24 Hr	217,00	220,02	73,34	143,74
<i>Tramadol-Fenilbutazona</i>	Muestra	Promedio	DE	EE	IC
	Basal	419,33	245,77	81,92	160,57
	Recuperación	315,89	217,40	72,47	142,04
	Post 4 Hr	248,44	255,24	85,08	166,76
	Post 8 Hr	122,86	202,25	76,44	149,83
	Post 12 Hr	261,29	348,86	131,86	258,45
	Post 24 Hr	298,75	406,98	143,89	282,02

Anexo 9: Concentraciones promedio (\pm EE) de cortisol, glucosa, relación neutrófilo:linfocito (N:L) y eosinófilos para los equinos sometidos a orquiectomía, tratados con Fenilbutazona (n=10) o Tramadol-Fenilbutazona (n=9) y sus valores de significancia.

	Tratamiento Fenilbutazona	Tratamiento Tramadol-Fenilbutazona	<i>P</i>
Cortisol	143,8 \pm 8,22	197,6 \pm 13,97	0,0014 *
Glucosa	4,0 \pm 0,12	4,6 \pm 0,15	0,0043
N:L	2,6 \pm 0,17	2,3 \pm 0,21	0,2141
Eosinófilos	226,2 \pm 27,48	284,3 \pm 40,67	0,4245 *

*Wilcoxon Rank Sum Test

9. AGRADECIMIENTOS

Quiero dedicarles a mis padres el esfuerzo de estos años y agradecerles la gran oportunidad que me han dado, depositando plena confianza en mí. Agradezco a mis hermanos (y hermanas) sus consejos valiosos y palabras que a veces nadie se atreve a decir.

A mis amigos, por ser mi familia en estos siete años viviendo en Valdivia. Especialmente quiero agradecer a Alejandro, Maximiliano y Sofía, por aparecer en el momento preciso, apoyarme y motivarme en el camino que deseo, por creer en mí a veces más de lo que yo lo hago.

Finalmente y no menos importante, quiero destacar a los docentes (Sebastián, Tamara y Mirela), a los funcionarios del hospital (Don Saúl y Don Elio) y del laboratorio clínico (Sra. Helga, Don Atilio y Sra. Vero) por su colaboración y eterna paciencia durante cada una de las etapas de este estudio.

...Todas las personas que aparecen en nuestra vida lo hacen en el momento preciso, para ayudarnos y/o enseñarnos algo en la vida.
Queda en nuestras manos aprovecharlo o dejar pasar la oportunidad...