



DANO OXIDATIVO EM HEMÁCIAS DE CÃES COLETADAS EM TUBOS COM ANTICOAGULANTE EDTA (ÁCIDO ETILENO DIAMINOTETRACÉTICO) MANTIDAS EM TEMPERATURA AMBIENTE E REFRIGERADA

FAREZIN, Ketlin¹; MORAIS, Bibiana Teló¹; SOARES, Mariana Maciel²,
QUARESMA, Carolina Toniazzo³, WOLKMER, Patricia⁴; SIQUEIRA, Lucas⁴

Palavras-Chave: Estresse oxidativo. Hemólise. Hemácia.

INTRODUÇÃO

O hemograma proporciona avaliação dos três componentes principais do sangue periférico (eritrócitos, leucócitos e plaquetas). Devido ao seu baixo custo e grande utilidade na atividade clínica, é um dos exames mais solicitados na rotina laboratorial, uma vez que ajuda a avaliar a saúde geral do animal, auxilia na determinação do diagnóstico, avalia o progresso de certas doenças e consequente resposta à terapêutica (REBAR, 2003). Apesar de sua realização ser prática. Alguns cuidados devem ser tomados para não obter alterações nos resultados finais, como uma coleta correta e armazenamento adequado do sangue em tubos específicos e em volumes corretos.

Muitas vezes não é possível a realização do exame logo após a coleta, necessitando que esta amostra fique conservada por algumas horas, ou até mesmo dias. O maior desafio é o armazenamento de sangue canino, uma vez que é considerada a espécie que mais ocorre lise das hemácias a partir do estresse oxidativo. Esse dano resulta em erro no hematócrito e a contagem de eritrócitos, pois ambos estarão reduzidos devido a perda de hemácias (BUSH, 2004, REBAR *et al.*, 2003). Este trabalho tem por objetivo avaliar o efeito do estresse oxidativo nos eritrócitos, conservados em tubos com anticoagulante (EDTA) de sangue de canino conservado em temperatura ambiente 20°C e refrigerados (0-7°C) por até 30h

¹ Acadêmicas do Curso de Medicina Veterinária, Universidade de Cruz Alta, bolsistas PIBIC/UNICRUZ 2017/2018, email: ketlin_08@hotmail.com , bibianatelo@hotmail.com

² Bolsista de Iniciação Científica Ensino Médio. Email: mari.soares05@hotmail.com

³ Acadêmica do Curso de Medicina Veterinária, Universidade de Cruz Alta. Email: carolinaquaresma98@gmail.com

⁴ Docentes do Curso de Medicina Veterinária, Universidade de Cruz Alta, email: pwolkmer@unicruz.edu.br ; lusiqueira@unicruz.edu.br



METODOLOGIA

Foram utilizados 8 cães adultos, em boas condições de saúde, atestados pelo exame clínico, hemograma completo e pesquisa de parasitos intestinais, estando todos dentro das exigências para a coleta de sangue. De cada animal, foi coletado aproximadamente 24mL de sangue, imediatamente transferido para 12 tubos contendo EDTA 10% (2 ml/tubo). As amostras foram divididas em 2 grupos sendo: Grupo 1 conservada em temperatura ambiente (20°C) e Grupo 2 conservada em refrigeração (0-4°C). A cada 6 horas, durante 30h uma alíquota era retirada para as avaliações descritas abaixo.

Para avaliação hematológica utilizou-se 0,5 ml de sangue nos tempos pré-determinados. A contagem de eritrócitos, e concentração de hemoglobina (Hb) através de contador celular eletrônico (Vet Auto Hematology Analyzer, modelo BC 2800) também foram realizadas. O hematócrito (Ht), é determinado pelo método de centrifugação, utilizando microcentrífuga a 1.500rpm por cinco minutos.

A peroxidação lipídica determinada pelos níveis de TBARS, de acordo com o método descrito por JENTZSCH *et al.*, (1996). Para isso, 0,2 ml do plasma separado foi adicionado a um tubo contendo uma mistura de reação com ácido ortofosfórico e ácido tiobarbitúrico. A mistura foi incubada a 95°C por 45 minutos em banho maria. Na sequência, resfriou-se os tubos em água, para parar a reação. A leitura foi realizada em 535 nanômetros e o resultado expresso em nanomoles de malondialdeído (MDA) por litro.

RESULTADOS PARCIAIS E DISCUSSÕES

Os resultados quanto a avaliação de hemácias e hemoglobina nos diferentes ambientes estão apresentados na Figura 1, enquanto os resultados referentes ao hematócrito e peroxidação lipídica estão apresentados na Figura 2. Em relação aos resultados obtidos, na contagem de hemácias (milhões/mm³), hematócrito e hemoglobina de cães saudáveis, mensurada a cada 6 horas conservados em temperatura ambiente (20°C) e refrigerados (0-4C), não ocorreu diferença estatística significativa ao longo do tempo, nas diferentes temperaturas. Em relação a peroxidação lipídica avaliada pelo TBARS, foi observada diferença estatística somente nas 24h, após a coleta, mantido em temperatura refrigerada, em relação ao tempo 0h



Figura 1- Relação tempo e temperatura na conservação de hemácias e hemoglobina A) Contagem de hemácias B) Concentração de hemoglobina. Amostras sanguíneas coletadas em tubos com EDTA e avaliadas a cada 6 horas conservados em temperatura ambiente (20C) e refrigerados (0-4C). (n=8, não ocorreu diferença estatística significativa ao longo do tempo, nas diferentes temperaturas, One way anova).

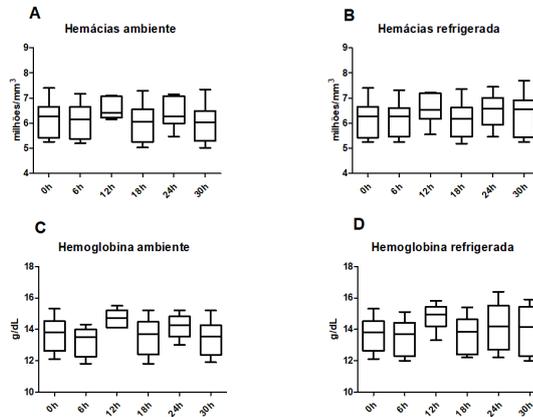
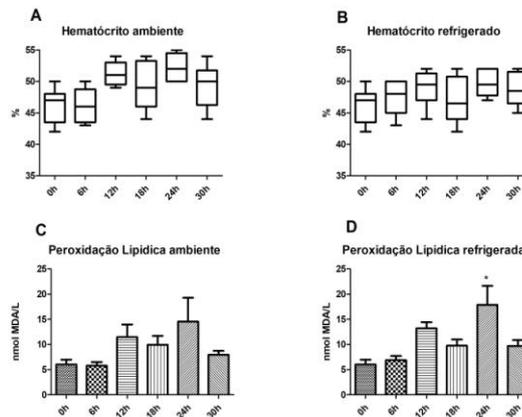


Figura 2- Relação tempo e temperatura na conservação do hematócrito e peroxidação lipídica A) Contagem de hemácias B) Concentração de hemoglobina. Amostras sanguíneas coletadas em tubos com EDTA e avaliadas a cada 6 horas conservados em temperatura ambiente (20C) e refrigerados (0-4C). (n=8, não ocorreu diferença estatística significativa ao longo do tempo, nas diferentes temperaturas, One way anova).



CONSIDERAÇÕES FINAIS

Podemos concluir que o anticoagulante utilizado mantém as hemácias estáveis por até 30h independente da temperatura armazenada. Além disso, observamos que o dano oxidativo só inicia após 24h porém não foi suficiente para causar hemólise. Podendo assim demonstrar a importância do correto armazenamento sanguíneo em sua devida temperatura e também o efeito do estresse oxidativo perante o dano na membrana dos eritrócitos.



REFERÊNCIAS

- BARBOSA, K.B.F., COSTA, N.M.B., ALFENAS, R.C.G., PAULA, S.O., MININ, V.P.R., BRESSAN, J. **Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios.** Vet. Nutri., Campinas, 23(4):629-643, jul/ago., 2010.
- CURTIS, A.O., **Parâmetro de estresse oxidativo em cães naturalmente infectados pelo vírus da cinomose.** Dissertação de mestrado, Santa Maria, RS, 2013.
- FERNADES, M. S. **Determinação de parâmetros oxidativos e bioquímicos em indivíduos multitransfundidos.** Dissertação de mestrado, Uruguaiana, RS, 2012.
- JUNTZSCH AM, BACHMANN H, FÜRST P, BIESALSKI HK. **Improved analysis of malondialdehyde in human body fluids.** Free Radic Biol Med. 1996;20:251–256.
- MACHADO, L.P., KOHAYAGAWA, A., SAITO, M.E., SILVEIRA, V.F., YONEZAWA, L.A. **Lesão oxidativa eritrocitária e mecanismos antioxidantes de interesse da Medicina Veterinária.** Revista de Ciências Agroveterinárias. Lages, v.8, n.1, p. 84-94, 2009.
- VASCONCELOS, S.M.L., GOULART, M.O.F., MOURA, J.B.F., BENFATO, V.M.M.S., KUBOTA, L.T. **Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: Principais métodos analíticos para a sua determinação.** Quim. Nova, Vol. 30, No. 5, 1323-1338, 2007.