UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
DOUTORADO EM CIÊNCIA ANIMAL

NAYANNA BRUNNA DA SILVA FONSECA

AVALIAÇÃO DA TRANSFUSÃO SANGUÍNEA EM CAPRINOS

MOSSORÓ-RN

2016

NAYANNA BRUNNA DA SILVA FONSECA

AVALIAÇÃO DA TRANSFUSÃO SANGUÍNEA EM CAPRINOS

Tese apresentada ao Doutorado em Ciência Animal do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Doutora em Ciência Animal.

Linha de Pesquisa: Sanidade Animal

Orientador: Profº. Drº. Raimundo Alves Barrêto Júnior

MOSSORÓ-RN

2016

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei n° 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei n° 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central Orlando Teixeira (BCOT)
Setor de Informação e Referência (SIR)

F676a Fonseca, Nayanna Brunna da Silva .
Avaliação da transfusão sanguínea em caprinos / Nayanna Brunna da Silva Fonseca. - 2016.
72 f. : il.

Orientador: Raimundo Alves Barrêto Júnior.
Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, 2016.

1. Hemoterapia. 2. Bodes. 3. Estresse oxidativo. 4. Hemogasometria. 5. Reações transfusionais. I. Barrêto Júnior, Raimundo Alves
, orient. II. Título.

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC´s) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

NAYANNA BRUNNA DA SILVA FONSECA

AVALIAÇÃO DA TRANSFUSÃO SANGUÍNEA EM CAPRINOS

Tese apresentada ao Doutorado em Ciência Animal do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Doutora em Ciência Animal.

Linha de Pesquisa: Sanidade Animal.

Defendida em: 31 / 10 / 2016.

BANCA EXAMINADORA

Raimundo Alves Barrêto Júnior, Prof. Dr. (UFERSA)
Orientador - Presidente

Michelly Fernandes de Macedo, Profa. Dra. (UFERSA)
Membro Examinador

Wirton Peixoto Costa, Prof. Dr. (UFERSA)
Membro Examinador

João Marcelo Azevedo de Paula Antunes, Prof. Dr. (UFERSA)
Membro Examinador

Andressa Francisca Silva Nogueira, Profa. Dra. (UFPI)
Membro Examinador

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

NAYANNA BRUNNA DA SILVA FONSECA - filha de Terezinha Nilma da Silva e Francisco Belarmino da Fonseca, nasceu no dia 25 de Novembro de 1986, na cidade de Mossoró, Estado do Rio Grande do Norte. Iniciou os estudos com apenas 2 anos de idade no Colégio Passos Livre (Mossoró – RN, em 1989), onde cursou até a segunda série (1994). Daí em diante estudou no Colégio Diocesano Santa Luzia (Mossoró – RN, 1995 - 2003) onde concluiu o Ensino Médio (2003). No ano de 2005 ingressou no curso de Medicina Veterinária da então ESAM. Durante a graduação atuou nas áreas de Laboratório Clínico e Clínica e Cirurgia de Pequenos Animais. Foi monitora da disciplina de Patologia Clínica e bolsista de PIBIC (Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica) pelo período de um ano e meio. No segundo semestre do ano de 2009 concluiu a graduação já na UFERSA (Universidade Federal Rural do Semi-Árido). No ano de 2010 ingressou, como aluna de Mestrado, no Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da UFERSA, sob orientação do Professor Doutor Benito Soto Blanco. No decorrer do Mestrado atuou como colaboradora nas disciplinas de Patologia Clínica, Farmacologia Geral, Terapêutica Veterinária, Clínica Médica de Pequenos Animais e Toxicologia Veterinária, todas do curso de Medicina Veterinária da UFERSA. Foi bolsista CNPq por dois anos e em Agosto de 2012 defendeu a dissertação intitulada como "Avaliação da capacidade da ricina inativada pelo calor e do gossipol conjugado à albumina em prevenir intoxicações" para a obtenção do título de Mestra. Nesse mesmo período ingressou, como aluna de Doutorado, no Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da UFERSA, sob orientação do Professor Doutor Raimundo Alves Barrêto Júnior. Foi bolsista da FAPERN por um ano e seis meses. No decorrer do Doutorado atuou como colaboradora na disciplina de Anatomia e Fisiologia Comparada dos Animais Domésticos do curso de Agronomia. No ano de 2014 foi aprovada em concurso público para professora substituta, também na UFERSA, onde ministrou aulas nas disciplinas de Engenharia Genética, Genômica e Proteômica, Desenvolvimento de Produtos Biotecnológicos, Enzimologia e Tecnologia da Fermentação do Curso de Biotecnologia; Farmacologia Geral e Patologia Clínica do Curso de Medicina Veterinária; e Parasitologia Zootécnica do Curso de Zootecnia. Por fim no ano de 2016 defendeu a tese intitulada como "Avaliação da transfusão sanguínea em caprinos" para a obtenção do título de Doutora em Ciência Animal pela UFERSA.

Aos meus pais, Nilma e Belarmino, e ao meu amor Claudecir que compartilharam comigo todas as alegrias e angústias vivenciadas ao longo desses quatro anos. O amor, a paciência e o cuidado que vocês dedicaram a mim foi essencial para essa conquista. Por isso que essa é mais uma etapa vencida e dedicada a vocês. Que não lhes faltem saúde, paz, amor e fé e que Deus os abençoe e os ilumine sempre. Amo vocês.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, que sempre está ao meu lado, ouvindo minhas orações e iluminando minha caminhada. Muito obrigada por sempre me ajudar a seguir em frente, mesmo diante das adversidades.

Aos meus pais que tanto amo e que sempre me dedicam muito amor e cuidado, ajudando-me a alcançar meus objetivos. Quero retribuir lhes dando sempre motivos para sorrir e se orgulharem de mim. Sintam comigo a felicidade de conquistar mais uma etapa da minha vida. Esta conquista é nossa.

Ao meu amor, Claudecir, que Deus me deu para eu amar e cuidar por toda a vida. Obrigada pelo amor, cuidado, paciência, inúmeras tentativas de me fazer sorrir nos momentos de estresse e pela ajuda dada também no decorrer do doutorado. Muito obrigada, Gordinho, que Deus abençoe sempre nosso amor.

Ao meu orientador, Raimundo Alves Barrêto Júnior, por ter me aceitado como parte da sua equipe, pelos ensinamentos e por toda confiança depositada em mim. Esses quatro anos de doutorado foram um período de crescimento e amadurecimento profissional e pode ter certeza que a autonomia que você me deu desde a ministrar aulas em suas disciplinas à realização do meu experimento foram muito importantes para essa evolução. Obrigada por tudo.

Ao professor, Humberto Minervino, que ajudou na realização da estatística do meu experimento. Desculpe-me pelos inúmeros envios de dados e inúmeras dúvidas. Muito obrigada pelo apoio e por ter sido sempre prestativo em atender-me.

A TODOS que fazem ou fizeram parte do LABMIV: Rejane, Jucélio, Jerson, Isabella, Estela, Aluísio, Jocelho, Feitosa, Aline, Rodolfo, Anderson... Obrigada por terem compartilhado comigo esse momento tão enriquecedor e ao mesmo tempo tão angustiante e estressante. Obrigada por terem abraçado comigo o meu experimento como se fosse o de vocês; por terem deixado às férias de lado para me ajudar; pelas noites acordadas e palavras “Nayanna, acalme-se, vai dar tudo certo”. Enfim, muito obrigada por tudo, vocês foram essenciais para a concretização dessa etapa em minha vida profissional.

Um agradecimento especial para “Reja” por TODAS as inúmeras vezes que lhe perturbei e que em TODAS você me ajudou transmitindo seu conhecimento, tranquilidade e generosidade, tornando tudo mais fácil de ser realizado. Obrigada pela paciência, pelas palavras e pela torcida para que desse tudo certo. Saiba que mesmo estando longe você foi essencial para que eu conseguisse alcançar o meu objetivo. Que Deus a abençoe muito para que você tenha sempre muito sucesso.

Aos que não fazem parte do LABMIV, mas que sempre estiveram torcendo por mim e me ajudando no que fosse preciso. Obrigada Talyta, Ivana, Rociene e Ariana. Vocês foram maravilhosas, super prestativas e sempre com uma palavra amiga de carinho e conforto. Obrigada também a Leonardo pela contribuição dada na realização das minhas análises.

Aos responsáveis e integrantes dos laboratórios que deram suporte ao meu experimento. Em especial Dr. Paulo, Heider, André e Erinaldo (Laboratório do HOVET); Prof. Jean Berg (LIPOA); Alexandre (Técnico do Laboratório Multidisciplinar); Clara (Técnica do Laboratório do Departamento de Clínica Médica- FMVZ/USP). Obrigada pelo apoio e confiança.

Aos membros da banca (Michelly, Wirton, João Marcelo e Andressa) por terem aceitado o convite para participar da minha banca de defesa de doutorado. Agradeço a cada um de vocês por todas as observações realizadas, as quais contribuíram grandemente para o meu trabalho.

A minha família e amigos que sempre me apoiaram e torceram por mim.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, colaboraram para que eu conseguisse concluir esse trabalho.

Aos meus cães, Chauã e Rebeca (*in* memoriam), que em todos os meus momentos de estresse me deram amor e carinho incondicional.

Aos queridos bodes, em especial “Beagle”, “James Bond (007)” e “Jornalista” que de uma maneira mais especial marcaram esse momento. Obrigada por terem contribuído, vocês foram essenciais para a realização e conclusão desse trabalho.

“Comece fazendo o necessário, depois o que é possível e de repente você estará fazendo o impossível”.

São Francisco de Assis

AVALIAÇÃO DA TRANSFUSÃO SANGUÍNEA EM CAPRINOS

FONSECA, Nayanna Brunna da Silva. **Avaliação da transfusão sanguínea em caprinos**. 2016. Tese (Doutorado em Ciência Animal: Curso de Medicina Veterinária) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN. 2016.

RESUMO: Este trabalho teve como objetivo avaliar as respostas clínica, hematológica, bioquímica, hemogasométrica, estresse oxidativo, peroxidação lipídica e as reações transfusionais de caprinos submetidos à transfusão homóloga de sangue total fresco ou armazenado por 15 e 35 dias. Foram utilizados 18 caprinos machos, adultos, hígidos, os quais foram submetidos à indução de anemia e, seis horas após, transfundidos com sangue total armazenado em bolsas CPDA-1 (Citrato, fosfato, dextrose e adenina) de acordo com o grupo experimental composto por 6 animais cada: G0 (recebeu sangue fresco); G15 e G35 (receberam sangue armazenado por 15 e 35 dias, respectivamente). As reações transfusionais foram registradas durante o decorrer da transfusão, enquanto que parâmetros clínicos, hematológicos, bioquímicos, hemogasométricos, estresse oxidativo e peroxidação lipídica foram avaliados através da coleta de amostras de sangue nos seguintes momentos: antes da indução da anemia (TC0); 6 horas após a flebotomia e antes de transfusão (TC1); 1, 6, 12, 24 e 96 horas após a transfusão (T1, T6, T12, T24 e T96, respectivamente); 8, 16 e 32 dias após a transfusão (T8d, T16d e T32d, respectivamente). Amostras de sangue também foram retiradas das bolsas, antes da transfusão, para realização das mesmas análises. As bolsas de sangue armazenado por 15 e 35 dias apresentaram mais alterações bioquímicas, hemogasométricas, estresse oxidativo e peroxidação lipídica do que as bolsas de sangue fresco, porém quanto aos parâmetros hematológicos elas foram semelhantes entre si. Todos os grupos apresentaram reações transfusionais, entre as quais fasciculações e vocalização ocorreram com maior frequência. Na análise hematológica, os animais que receberam sangue fresco apresentaram maior volume globular, número de hemácias e concentração de hemoglobina quando comparados aos animais que receberam sangue armazenado. Quanto à análise bioquímica, após a transfusão observou-se aumento das proteínas nos 3 grupos; aumento transitório da glicose sérica no G0 e G35; elevação da bilirrubina total, bilirrubina direta e uréia no G15 e G35; além disso, houve elevação da creatina quinase nos 3 grupos. As alterações observadas na análise hemogasométrica não tiveram significado clínico, pois estavam dentro dos valores de referência para a espécie. Quanto ao estresse oxidativo, os animais que receberam sangue armazenado apresentaram desordem no seu sistema antioxidante demonstrada pela alteração da atividade da SOD até o T12. Na análise da peroxidação lipídica não houve diferença entre os grupos para a concentração de malondialdéido. Sendo assim, pode-se concluir que a transfusão de sangue homólogo total fresco foi mais eficiente em repor a volemia, número de hemácias e concentração de hemoglobina do que a transfusão de sangue total armazenado. Porém, a transfusão seja de sangue total fresco ou armazenado não comprometeu a gasometria, peroxidação lipídica, funções hepática e renal dos caprinos e mostrou-se eficiente em repor entre outros componentes, as proteínas totais. Sendo assim, a transfusão sanguínea, conforme realizada neste estudo, mostrou-se segura para ser utilizada na prática clínica desta espécie.

Palavras-chave: Hemoterapia. Bodes. Estresse oxidativo. Hemogasometria. Reações transfusionais.

EVALUATION OF BLOOD TRANSFUSION IN GOATS

FONSECA, Nayanna Brunna da Silva**. Evaluation of blood transfusion in goats**. 2016. Tese (Doutorado em Ciência Animal: Curso de Medicina Veterinária) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN. 2016.

ABSTRACT: This work aimed to evaluate the clinical, hematological, biochemical, hemogasometric, oxidative stress, lipid peroxidation and transfusion reactions of goats submitted to homologous transfusion of fresh whole blood or stored for 15 and 35 days. Eighteen healthy adult male goats were submitted to the induction of anemia and six hours later were transfused with whole blood stored in CPDA-1 bags (Citrate, phosphate, dextrose and adenine) according to the composite experimental group For 6 animals each: G0 (received fresh blood); G15 and G35 (received blood stored for 15 and 35 days, respectively). The transfusion reactions were recorded during the course of the transfusion, whereas clinical, hematological, biochemical, hemogasometric, oxidative stress and lipid peroxidation parameters were assessed by blood sampling at the following moments: before induction of anemia (TC0); 6 hours after phlebotomy and before transfusion (CT scan); 1, 6, 12, 24 and 96 hours after transfusion (T1, T6, T12, T24 and T96, respectively); 8, 16 and 32 days after transfusion (T8d, T16d and T32d, respectively). Samples of blood were also withdrawn from the pockets, prior to transfusion, for the same analyzes. The pockets of blood stored for 15 and 35 days presented more biochemical changes, hemogasometric, oxidative stress and lipid peroxidation than fresh blood bags. However, the hematological parameters were similar to each other. All groups presented transfusion reactions, among which fasciculations and vocalization occurred more frequently. In the hematological analysis, the animals that received fresh blood presented higher globular volume, number of red blood cells and hemoglobin concentration when compared to the animals that received stored blood. As for the biochemical analysis, after the transfusion it was observed an increase of the proteins in the 3 groups; Transient increase of serum glucose in G0 and G35; Elevation of total bilirubin, direct bilirubin, and urea in G15 and G35; In addition, there was elevation of creatine kinase in the 3 groups. The changes observed in the hemogasometric analysis had no clinical significance, as they were within the reference values for the species. As for oxidative stress, the animals that received stored blood presented disorder in their antioxidant system demonstrated by the alteration of the activity of SOD until the T12. In the analysis of lipid peroxidation there was no difference between the groups for the concentration of malondialdehyde. Thus, it can be concluded that transfusion of fresh total homologous blood was more efficient in restoring blood volume, number of erythrocytes and hemoglobin concentration than the transfusion of stored whole blood. However, transfusion of fresh or stored whole blood did not compromise the blood gas, lipid peroxidation, hepatic and renal functions of goats and proved to be efficient in restoring, among other components, the total proteins. Thus, blood transfusion, as performed in this study, was shown to be safe for use in the clinical practice of this species.

Keywords: Hemotherapy. Goats. Oxidative stress. Hemogasometry. Transfusion reactions.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 3:

Figura 1 – Análise hemogasométrica de caprinos submetidos à perda sanguínea e, posteriormente, à transfusão homóloga de sangue total fresco (G0), armazenado em bolsas CPDA-1 por 15 dias (G15) ou 35 dias (G35), nos tempos analisados.....62

Figura 2 – Atividade de SOD, GPx e concentração de MDA de caprinos submetidos à perda sanguínea e, posteriormente, à transfusão homóloga de sangue total fresco (G0), armazenado em bolsas CPDA-1 por 15 dias (G15) ou 35 dias (G35), nos tempos analisados.....63

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2:

Tabela 1 – Valores médios (X) e desvios padrão (S) das variáveis hematológicas do sangue total de caprinos armazenado em bolsas CPDA-1 imediatamente após a coleta (B0), armazenado por quinze dias (B15) e armazenado por 35 dias (B35).…….....……..…….....….....…39

Tabela 2 – Manifestações clínicas observadas em caprinos durante a transfusão de sangue total coletado e transfundido na forma de sangue fresco (G0), armazenado por 15 dias (G15) ou armazenado por 35 dias (G35).…….....…...40

Tabela 3 – Valores médios (X) e desvios padrão (S) dos parâmetros clínicos de caprinos submetidos à perda sanguínea e, posteriormente, à transfusão homóloga de sangue total fresco (G0), armazenado em bolsas CPDA-1 por 15 dias (G15) ou 35 dias (G35), nos tempos analisados...……..…….....…… 41

Tabela 4 – Valores médios (X) e desvios padrão (S) do volume globular, concentração de hemoglobina e número de hemácias de caprinos submetidos à perda sanguínea e, posteriormente, à transfusão homóloga de sangue total fresco (G0), armazenado em bolsas CPDA-1 por 15 dias (G15) ou 35 dias (G35), nos tempos analisados...……..…….....……...….43

CAPÍTULO 3:

Tabela 1 – Valores médios (X) e desvios padrão (S) das variáveis bioquímicas, hemogasométricas, peroxidação lipídica e do estresse oxidativo do sangue total fresco (B0), armazenado em bolsa CPDA-1 por 15 dias (B15) e armazenado por 35 dias (B35).....……..... 59

Tabela 2 – Valores médios (X) e desvios padrão (S) de variáveis bioquímicas de caprinos submetidos à perda sanguínea e, posteriormente, à transfusão homóloga de sangue total fresco (G0), armazenado em bolsas CPDA-1 por 15 dias (G15) ou 35 dias (G35), nos tempos analisados..... 60

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACD	Ácido cítrico, citrato de sódio e dextrose.
AST	Aspartato aminotransferase
ATP	Adenosina trifosfato
BE	Déficit ou Excesso de base no sangue
bpm	Batimentos por minuto
BD	Bilirrubina direta
BI	Bilirrubina indireta
BT	Bilirrubina total
CHCM	Concentração de hemoglobina corpuscular média
CK	Creatina quinase
CO_2	Dióxido de Carbono
CPD	Ácido cítrico, citrato de sódio, fosfato de sódio, dextrose
CP2D	Citrato de sódio, fosfato de sódio, dextrose-dextrose
CPDA-1	Citrato de sódio, fosfato de sódio, dextrose, adenina
CPD/SAG-M	Citrato de sódio, fosfato de sódio, dextrose/salina, adenina, glicose-manitol
dL	Decilitro
EDTA	Ácido dietilenodiamino tetra-acético
EROs	Espécies reativas do oxigênio
FC	Frequência Cardíaca
FR	Frequência Respiratória
g/dL	grama por decilitro
g/L	grama por litro
fL	Fentolitro
g	Gramas
GGT	Gama-glutamiltransferase
GPX	Glutationa peroxidase
GSH	Glutationa reduzida
Hb	Hemoglobina

HCO_3^-	Bicarbonato
K	Potássio
kg	Quilograma
IgM	Imunoglobulina M
L	Litro
LDH	Lactato desidrogenase
MDA	Malondialdeido
mg	Miligrama
mg/dL	miligrama por decilitro
mg/kg	miligrama por kilo
mg/L	miligrama por litro
mL	Mililitro
mmHg	Milímetro de mercúrio
mmol	Milimol
mpm	Movimentos por minuto
Na	Sódio
PCO_2	Pressão parcial de dióxido de carbono
pH	Potencial hidrogeniônico
PO_2	Pressão parcial de oxigênio
PT	Protéina Total
RPM	Rotações por minuto
RTNHF	Reação transfusional não hemolítica febril
SO_2	Saturação de oxigênio
SOD	Superóxido dismutase
TCO_2	Concentração Total de dióxido de carbono
TP	Tempo de protrombina
TTPA	Tempo de tromboplastina parcial ativado
U	Unidade
U/gHb	Unidades de enzima/grama de hemoglobina
UI	Unidade Internacional
VCM	Volume corpuscular médio
VG	Volume globular

LISTA DE SÍMBOLOS

®	Marca registrada
%	Porcentagem
ºC	Graus Celsius
λ	Lambda
µ	Micro

SUMÁRIO

1 CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS 17
1.1 INTRODUÇÃO 17
1.2 REFERENCIAL TEÓRICO 19
1.2.1 Transfusão sanguínea 19
1.2.2 Conservação de sangue 20
1.2.2.1 Bolsas de sangue e conservação 20
1.2.2.2 Lesões de Armazenamento 20
1.2.2.3 Controle de Qualidade 21
1.2.3 Indicações para transfusão 22
1.2.4 Seleção de doador 23
1.2.5 Reações adversas à transfusão 23
1.3 OBJETIVOS 25
1.3.1 Objetivo geral 25
1.3.2 Objetivos específicos 25
REFERÊNCIAS 26
2 CAPÍTULO 2 – RESPOSTAS CLÍNICA, HEMATOLÓGICA E REAÇÕES TRANSFUSIONAIS DE CAPRINOS SUBMETIDOS À TRANSFUSÃO SANGUÍNEA HOMÓLOGA 32
2.1 INTRODUÇÃO 34
2.2 MATERIAIS E MÉTODOS 36
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO 38
2.4 CONCLUSÕES 44
REFERÊNCIAS 44
3 CAPÍTULO 3 – RESPOSTAS BIOQUÍMICA, HEMOGASOMÉTRICA, ESTRESSE OXIDATIVO E PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA DE CAPRINOS TRANSFUNDIDOS COM SANGUE HOMÓLOGO TOTAL FRESCO OU ARMAZENADO 48
3.1 INTRODUÇÃO 51
3.2 MATERIAIS E MÉTODOS 52
3.3 RESULTADOS 56
3.4 DISCUSSÃO 64
3.5 CONCLUSÕES 69
REFERÊNCIAS 69

1 CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1.1 INTRODUÇÃO

Desde a antiguidade o poder terapêutico do sangue é conhecido, onde era usado para o controle de algumas enfermidades. Em meados do século XVII ocorreram as primeiras experiências com transfusão sanguínea utilizando animais como modelo experimental. Em 1165, o anatomista Richard Lower realizou a primeira transfusão homóloga entre animais, onde ele retirou sangue da artéria carótida de um cão e administrou a outro cão através da veia jugular (ESPINOSA, 1997; KLEIN; ANSTEE, 2005). Dois anos após, o cirurgião francês, Jean Baptiste Denis transfundiu sangue de ovino para um jovem, concretizando a primeira transfusão de sangue heteróloga (ESPINOSA, 1997).

Em humanos a primeira transfusão sanguínea foi realizada pelo cirurgião inglês James Bludell no século XIX (ESPINOSA, 1997; RUDMAN, 2005) que, devido ao seu grande esforço em estudar transfusão em humanos e animais, foi considerado o "pai da Medicina Transfusional" (RUDMAN, 2005). Apesar dos inúmeros estudos, somente no início do século XX, com os avanços tecnológicos, foi possível o uso mais difundido da transfusão sanguínea na medicina humana (LACERDA, 2005). Dentre estes avanços, houve a descoberta dos diferentes sistemas de grupos sanguíneos que diferenciam os indivíduos entre si (SWISHER; YOUNG, 1961) e auxiliam na escolha do doador; a utilização de anticoagulantes durante a coleta; o conhecimento das técnicas de esterilização; o fracionamento do sangue em diferentes hemocomponentes e o reconhecimento de doenças transmissíveis (LACERDA, 2005).

Na década de 50, diante dos avanços vivenciados na medicina humana tentou-se adaptar as novas tecnologias em prol dos pacientes veterinários, dando início assim a moderna medicina transfusional veterinária (KRISTENSEN; FELDMAN, 1997; COSTA JÚNIOR, 2006).

A transfusão sanguínea é um transplante tecidual temporário (BROOKS, 1992), que possui grande valor terapêutico para várias enfermidades, possuindo a mesma importância dos antibióticos, oxigenoterapia, anestesia e outros que atuam no tratamento e, consequentemente, reduzem a mortalidade dos animais domésticos (THORNTON, 1968). As indicações para transfusão de sangue total ou de um de seus componentes são: necessidade do restabelecimento do transporte de oxigênio pelo sangue, distúrbios na hemostasia, hipoproteinemia, hipovolemia e transferência de imunidade passiva. Dependendo do caso, é

preferível utilizar os diversos produtos do sangue de forma individual ao invés do sangue total (REICHMANN; DEARO, 2001).

Durante o armazenamento, o sangue sofre várias alterações que em conjunto são conhecidas como “lesões de armazenamento”. Estas lesões incluem alterações metabólicas, bioquímicas e moleculares das células vermelhas que podem resultar em danos irreversíveis e redução da sobrevivência pós-transfusional; até o acúmulo de substâncias biorreativas (citocinas e lipídeos), as quais podem interferir na qualidade do sangue transfundido e contribuir para o aparecimento de reações adversas pós-transfusão (CHIN-YEE et al., 1997). Dentre as complicações pós-transfusionais, tem-se reações hemolíticas e de hipersensibilidade; transmissão de doenças infecciosas (MOORE, 1953; ABRAMS-OGG, 2000; REGAN; TAYLOR, 2002; MADJDPOUR; SPAHN, 2005); alterações bioquímicas, metabólicas e de coagulação (ABRAMS-OGG, 2000).

A necessidade de transfusão em caprinos normalmente está associada à anemia decorrente da presença de endo e ectoparasitas; deficiências nutricionais; traumas e intervenções cirúrgicas (PUGH, 2004).

A transfusão sanguínea é uma prática comum na clínica de pequenos ruminantes, apesar disto, os estudos sobre hemoterapia em caprinos são escassos e incompletos. Um exemplo é o artigo de Umaru et al. (2009) que após realizar a transfusão homóloga de 10 mL/kg de sangue caprino conservado por período de apenas dois dias, avaliou pouquíssimas variáveis que não evidenciaram a importância e efeitos da hemoterapia nessa espécie. Desta forma, o que se observa muitas vezes é essa medida terapêutica sendo utilizada sem critérios adequados e desconsiderando possíveis riscos inerentes à transfusão. Sendo assim, diante da necessidade de se estudar e avaliar a viabilidade dessa prática na espécie caprina justificou-se a realização do presente estudo.

1.2 REFERENCIAL TEÓRICO

1.2.1 Transfusão sanguínea

O sangue é um dos mais completos e complexos componentes do organismo e que se renova constantemente, sendo responsável por diversas funções vitais, como: oxigenação, proteção imunológica, equilíbrio ácido-base, hemostasia, entre outras (MOLLISON et al., 1997).

A transfusão sanguínea pode ser classificada em autóloga, que consiste na coleta e reintrodução do sangue do animal em suas próprias veias; homóloga, cuja transfusão é feita entre animais da mesma espécie; e heteróloga, quando a transfusão é feita entre espécies diferentes (DEGERNES et al., 1999a; DEGERNES et al., 1999b; CHAVES, 2009).

A transfusão de sangue repõe os constituintes sanguíneos e, em situações de hemorragia grave, representa o tratamento mais adequado (RADOSTITS et al., 2012). Porém, esta deve ser considerada como medida terapêutica emergencial e de efeito limitado e transitório (REICHMANN; DEARO, 2001), pois o tempo de vida das hemácias transfundidas é curto nas diferentes espécies: equinos adultos de 2 a 4 dias (HART, 2015); bovinos de 2 a 3 dias (MORAIS et al., 2002); em caprinos de 2,4 a 5,1 dias (SMITH; SHERMAN, 2009); e até 16 dias em ovinos (SOUSA, 2012) .

A transfusão de sangue total ainda é a mais utilizada devido a difícil separação dos componentes sanguíneos, os quais podem ser obtidos por centrifugação ou, de forma menos comum, por aférese. Na maioria das vezes, o paciente necessita apenas de um componente do sangue e o seu uso permite que o sangue do doador seja utilizado para vários pacientes e reduz os riscos de reações adversas causadas pela presença de componentes desnecessários.

A papa de hemácias e o plasma (fresco congelado ou congelado) são os componentes sanguíneos mais utilizados na medicina transfusional, a qual tem evoluído para dar suporte, principalmente, aos avanços na medicina intensiva e oncologia veterinária. Algumas instituições produzem rotineiramente os componentes do sangue e os comercializa em alguns países (ABRAMS-OGG, 2000).

Os hemoderivados são produtos proteicos obtidos por métodos bioquímicos (por exemplo, extração com etanol) a partir do plasma de doadores. Incluem a albumina, imunoglobulina e concentrados de fatores de coagulação. Sua utilização em medicina veterinária é limitada quando comparada ao uso de hemocomponentes (ABRAMS-OGG, 2000).

1.2.2 Conservação de sangue

1.2.2.1 Bolsas de sangue e conservação

A coleta de sangue deve ser feita em bolsas apropriadas contendo anticoagulantes acrescidos ou não de fatores nutricionais ou preservantes para hemácias (REICHMANN; DEARO, 2001). Para conservação de sangue em longo prazo devem-se utilizar conservantes como o ACD (ácido cítrico, citrato de sódio, dextrose), CPD (ácido cítrico, citrato de sódio, fosfato de sódio, dextrose), CP2D (citrato de sódio, fosfato de sódio, dextrose-dextrose) e CPDA-1 (citrato de sódio, fosfato de sódio, dextrose, adenina) (WARDROP, 1995; TIWARI; BALEKAR; JAIN, 2009). As bolsas utilizadas na Medicina Veterinária para conservação de sangue total são as mesmas utilizadas pela Medicina humana (COSTA JÚNIOR et al., 2008; SOUSA et al., 2009; LAPOSY; NOGUEIRA, 2011; BARROS, 2011; TAVARES, 2013).

Na medicina veterinária não é indicado usar como referência o tempo de conservação do sangue humano, pois, em estudos utilizando as mesmas soluções para a conservação do sangue, o tempo de armazenamento foi diferente entre as espécies. O sangue total de equinos e bovinos pode ser armazenado em bolsas contendo CPDA-1 (Citrato, Fosfato, Dextrose, Adenina) por 21 a 28 dias (DURHAM, 1996) e por 35 dias, respectivamente (RIBEIRO FILHO et al.,1994a; RIBEIRO FILHO et al.,1994b). O sangue total asinino mostrou boa qualidade quando armazenado por 42 dias em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M (Citrato, fosfato, dextrose/salina, adenina, glicose-manitol) (BARROS, 2011). Em ovinos o sangue total pode ser armazenado por até 35 dias em bolsas CPDA-1 (SOUSA et al., 2009). Enquanto que em caprinos pode ser armazenado por até 42 dias, sob refrigeração entre 1º e 6º C, em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M, sendo preferível o uso das bolsas CPDA-1 (TAVARES, 2013).

1.2.2.2 Lesões de Armazenamento

As soluções conservadoras são fonte de energia para manutenção do metabolismo eritrocitário, porém ao longo do armazenamento a sobrevivência das hemácias é limitada devido envelhecimento natural destas e diminuição da fonte energética (WARDROP; YOUNG; WILSON, 1994). A maior parte das lesões de armazenamento é causada por alterações no metabolismo que provocam a acidose, reduzindo a taxa metabólica e as

concentrações de ATP (Adenosina trifosfato) a níveis inviáveis (BOSMAN et al., 2008). Estes fatores desencadeiam diversas alterações na membrana plasmática dos eritrócitos, como redução do tamanho e esferocitose progressiva, aparecimento de microvesículas e aumento gradual da fragilidade osmótica (WARDROP; YOUNG; WILSON, 1994; BOSMAN et al., 2008).

Além disso, algumas hemácias podem sofrer lise, levando à redução do número de hemácias, diminuição do volume globular e do conteúdo de hemoglobina eritrocitária, com consequente aumento da hemoglobina plasmática (WARDROP; YOUNG; WILSON, 1994; BOSMAN et al., 2008). Estes eventos culminam com uma menor capacidade dos eritrócitos em se proteger dos agentes oxidantes (BOSMAN et al., 2008), sendo a taxa de hemólise um importante marcador do sistema de estocagem do sangue (HESS; GREENWALT, 2002). Após a transfusão, as hemácias viáveis que sobrevivem ao armazenamento recuperam suas funções. Enquanto que as hemácias danificadas ou mortas, são removidas rapidamente da circulação dentro das primeiras 24 horas (ELFATH, 2006).

Os eritrócitos, mesmo possuindo alta capacidade antioxidante, são bastante sensíveis aos danos causados pelos radicais livres na sua membrana celular. Quando armazenados, os glóbulos vermelhos apresentam a demanda de antioxidantes aumentada devido a fatores intrínsecos como aumento da quantidade de ferro e predisposição a auto-oxidação da hemoglobina, e a fatores extrínsecos como agitação, exposição à luz, altas concentrações de glicose (HESS, 2010) e liberação de radicais livres por leucócitos (RACEK et al., 2001; HESS, 2010).

As principais enzimas endógenas antioxidantes são superóxido dismutase (SOD), glutationa peroxidade (GPX) (CHIN-YEE et al., 1997; HUBER; ALMEIDA; FÁTIMA, 2008) e a proteína glutationa reduzida (GSH) (HUBER; ALMEIDA; FÁTIMA, 2008). Durante o armazenamento, os radicais livres tendem a aumentar, causando peroxidação lipídica nas hemácias (RACEK et al., 2001), onde o malondialdeido (MDA) é um dos produtos da lipoperoxidação (ABUJA; ALBERTINI, 2001).

1.2.2.3 Controle de Qualidade

O sangue armazenado deverá passar pelo controle de qualidade, antes de ser utilizado, para análise de sua viabilidade. Na medicina humana, há vários estudos sobre a padronização dos parâmetros de qualidade a fim de se evitar as lesões de armazenamento e, consequentemente, reações pós transfusionais (ALMAC; INCE, 2007; TOMCZAK et al.,

2010). Alguns parâmetros importantes analisados na rotina diária são hematócrito, concentração de hemoglobina, contaminação bacteriana e porcentagem de hemólise (FERREIRA et al., 2013).

Porém, na medicina veterinária, estes estudos ainda são escassos, sendo observada em alguns casos a utilização de padrões humanos para avaliação da qualidade do sangue animal armazenado (MUDGE et al., 2004; NIINISTÖ et al., 2008; BARROS, 2011). Estudos de coorte retrospectivos em humanos tem demonstrado que há correlação entre o tempo de armazenamento das hemácias e o risco de morte (KOCH et al., 2008; WEINBERG et al., 2010; AUBRON et al., 2013) e complicações pós-transfusionais, como pneumonia (LEAL-NOVAL et al., 2003; KOCH et al., 2008), insuficiência renal (KOCH et al., 2008) e falência múltipla de órgãos (ZALLEN et al., 1999; KOCH et al., 2008) em pacientes críticos.

1.2.3 Indicações para transfusão

Nas anemias graves, traumas ou em grandes cirurgias onde ocorre perda sanguínea aguda, causando comprometimento da oxigenação do sangue, sendo este o principal indicador do momento decisivo em que a reposição da volemia deve ser realizada com sangue ou seus hemocomponentes (VANE; GANEM, 2006). O sangue total ou seus hemocomponentes podem ser utilizados imediatamente após a coleta (produtos "frescos") ou após armazenamento (produtos conservados ou guardados em bancos) (ABRAMS-OGG, 2000).

Muitos animais toleram perda aguda de 10 a 15% do volume sanguíneo sem necessitar de transfusão. Porém, quando a perda aguda de sangue é maior do que 20% frequentemente é necessário realizar transfusão sanguínea (MALOUIN; SILVERSTEIN, 2009).

As indicações para transfusão sanguínea em ruminantes são principalmente relacionadas à anemia crônica causada por parasitas gastrointestinais (ex. *Haemonchus contortus*), ectoparasitas (piolhos sugadores – ex. *Haematopinus* spp. e *Linognathus* spp.) e hemoparasitas (Ex.: *Anaplasma* sp. e *Babesia* sp.) (MUDGE, 2010). Em caprinos, a necessidade de transfusão ocorre normalmente devido a anemia decorrente da presença de endo e ectoparasitas ou deficiências nutricionais. No entanto, outras causas como traumas e intervenções cirúrgicas são observadas na rotina de atendimento médico veterinário (PUGH, 2004).

1.2.4 Seleção de doador

A transfusão homóloga, para ser bem sucedida, necessita que a escolha dos doadores seja realizada incluindo os seguintes fatores: animais saudáveis, com porte físico adequado, não gestantes e sem histórico de transfusões sanguíneas anteriores (RADOSTITS et al., 2012). Para verificação das condições gerais do animal recomenda-se a realização do hematócrito e proteínas totais dos animais antes da coleta de sangue, pois estes podem estar acometidos por endo ou ecto parasitas (MUDGE, 2010). Além disso, o doador não deve possuir antígenos que comumente causam reações hemolíticas, ou seja, deve existir compatibilidade sanguínea entre doador e receptor (TIWARI; BALEKAR; JAIN, 2009).

Para seleção de doadores, pode-se buscar um banco de sangue e verificar quanto à disponibilidade dos componentes necessários a uma dada transfusão. Além disso, pode-se optar pela procura de doadores externos ao banco de sangue (HOHENHAUS, 1992; BÜCHELER; COTTER, 1992; LUCAS; LENTZ; HALE, 2004; TIWARI; BALEKAR; JAIN, 2009). Os caprinos podem doar de 10-15 mL/Kg (BLOOD; RADOSTITS, 1991; REICHMANN; DEARO, 2001), sendo que animais de maior porte contribuem com maior volume de sangue, reduzindo a quantidade necessária de doadores (HUNT; MOORE, 1990).

1.2.5 Reações adversas à transfusão

Os eritrócitos de animais possuem antígenos (glicolipídeos ou glicoproteínas) em sua superfície, que os classificam em grupos sanguíneos. Estes antígenos podem reagir com anticorpos anti-eritrócitos circulantes do receptor ou doador (BELL, 1983; ABRAMS-OGG, 2000; TIWARI; BALEKAR; JAIN, 2009). Os anticorpos podem aparecer naturalmente ou ser devido à transfusão feita anteriormente (BELL, 1983; TIWARI; BALEKAR; JAIN, 2009). Em alguns casos, a interação dos antígenos com anticorpos anti-eritrócitos não é tão grave, porém, há situações em que ocorre hemólise, mediada principalmente por IgM (Imunoglobulina M) e sistema complemento (BELL, 1983; ABRAMS-OGG, 2000; TIWARI; BALEKAR; JAIN, 2009), ou até mesmo o choque. De qualquer forma, há uma redução na eficácia da transfusão sanguínea e na sobrevida das hemácias transfundidas (BELL, 1983; TIWARI; BALEKAR; JAIN, 2009).

Os ruminantes possuem número variável de sistemas de grupos sanguíneos (bovinos pelos menos 11, ovinos de 7 a 8) (HUNT; MOORE, 1990; SOLDAN, 1999). Os caprinos possuem nove sistemas o: A, B, C (NGUYEN, 1990; TIWARI; BALEKAR; JAIN, 2009;

HRINCĂ, 2013), M e J (TIWARI; BALEKAR; JAIN, 2009); além dos sistemas E, F (NGUYEN, 1990), R e O (HRINCĂ, 2013). Destes sistemas o mais polimórfico é o B, possuindo o maior risco de reações transfusionais (NGUYEN, 1990; HRINCĂ, 2013). Porém, independente do número de diferentes tipos sanguíneos em ruminantes, estes não apresentam ou possuem poucas hemolisinas circulantes naturalmente e, portanto, uma primeira transfusão pode ser feita com menores riscos de reações adversas fatais (HUNT; MOORE, 1990; SOLDAN, 1999).

Apesar dos riscos de reações transfusionais imediatas após primeira transfusão serem raros em pequenos ruminantes (HUNT; MOORE, 1990; PUGH, 2004; SMITH; SHERMAN, 2009), recomenda-se a realização da prova de reação cruzada, principalmente em animais que necessitarão de múltiplas transfusões (HUNT; MOORE, 1990; SMITH; SHERMAN, 2009; COUTO, 1998; SOLDAN, 1999).

Para averiguar possíveis reações transfusionais, inicialmente, a administração de sangue deve ser feita lentamente. Quando há incompatibilidade sanguínea, a hemólise é a reação transfusional primeiramente observada. Volume de sangue maior do que o necessário deve ser evitado e o volume total administrado deve ser cuidadosamente observado principalmente em pequenos ruminantes (MUDGE, 2010). Alguns sinais de reações transfusionais são taquicardia, taquipneia, sudorese, tremores musculares, prurido, salivação, tosse, dispneia, febre, lacrimejamento, hematúria, hemoglobinúria, colapso, apneia e opistótono (HUNT; MOORE, 1990).

Na medicina veterinária, a reação transfusional não hemolítica febril (RTNHF) é a reação adversa transfusional mais relatada. Esta é caracterizada pela elevação da temperatura do animal em 1°C ou mais durante ou logo após uma transfusão e que não seja associada a uma doença subjacente ou outra reação transfusional. Na maioria das vezes, a RTNHF é causada por anticorpos no receptor que passa a agir contra antígenos presentes nas plaquetas e leucócitos do doador (BRACKER; DRELLICH, 2005).

Desta forma, a realização da transfusão homóloga deve ser seguida de inúmeros cuidados, evitando-se assim a exposição do receptor a complicações como reações transfusionais, aquisição de doenças transmissíveis, sensibilização imunológica, aumento no custo do tratamento, falha terapêutica e desperdício de material nobre (RAZOUK; REICHE, 2004).

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo geral

Avaliar as respostas de caprinos à transfusão de sangue homólogo fresco ou conservado por dois diferentes tempos.

1.3.2 Objetivos específicos

- Avaliar as respostas clínica, hematológica e reações transfusionais de caprinos submetidos à perda aguda de sangue e, subsequente transfusão com sangue total armazenado em bolsas tipo CPDA-1, em três diferentes períodos (0, 15 e 35 dias);
- Analisar o efeito da transfusão de sangue armazenado em três diferentes períodos (0, 15 e 35 dias) sobre o sistema de coagulação nessa espécie;
- Avaliar as respostas bioquímicas, hemogasométricas, estresse oxidativo e peroxidação lipídica de caprinos submetidos à perda aguda de sangue e, subsequente transfusão com sangue total armazenado em bolsas tipo CPDA-1, em três diferentes períodos (0, 15 e 35 dias);
- Demonstrar os parâmetros hematológicos, bioquímicos, hemogasométricos, estresse oxidativo e peroxidação lipídica do sangue armazenado em bolsas CPDA-1 nos três diferentes períodos.

REFERÊNCIAS

ABRAMS-OGG, A. Practical Blood Transfusion. In: DAY, M. J.; MACKIN, A.; LITTLEWOOD, J. D. (Eds.). **Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine**. U.K.: British Small Animal Veterinary Association, 2000. p. 263-303.

ABUJA, P. M.; ALBERTINI, R. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. **Clinica Chimica Acta**, v. 306, p. 1-17, 2001.

ALMAC, E.; INCE, C. The impact of storage on red cell function in blood transfusion. Best Practice & Research Clinical **Anaesthesiology**, v. 21, n. 2, p. 195–208, 2007.

AUBRON, C.; NICHOL, A.; COOPER, D. J.; BELLOMO, R. Age of red blood cells and transfusion in critically ill patients. **Annals of Intensive Care**, v. 3, n. 2, 2013.

BARROS, I. O. **Avaliação da conservação do sangue total de jumentos (*Equus asinus*) acondicionado em bolsas de sangue do tipo CPDA-1 e CPD/SAG-M**. 2011. 79f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró-RN, 2011.

BELL, K. The blood groups of domestic mammals. In: AGAR, N. S.; BOARD, P. G. (Eds.). **Red blood cells of domestic mammals.** New York: Elsevier Science, 1983. p. 133-164.

BLOOD, D. C., RADOSTITS, O. M. **Clínica Veterinária**. 7 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. 1263p.

BOSMAN, G. J.; WERRE, J. M.; WILLEKENS, F. L. NOVOTNÝ, V. M. Erythrocyte ageing in vivo and in vitro: structural aspects and implications for transfusion. **Transfusion Medicine**, v.18, n. 6, p. 335-347, 2008.

BRACKER, K. E.; DRELLICH, S. Transfusion Reactions. **Compendium**, v. 27, n. 7, p. 500-512, 2005.

BROOKS, M. Transfusion medicine. In: MURTAUGH, R. J.; KAPLAN, P. M. (Eds.). **Veterinary Emergency and Critical Care Medicine**. Saint Louis: Mosby Yearbook, 1992. p. 536-546.

BÜCHELER, J.; COTTER, S. M. Outpatient blood donor program. P**roblems in Veterinary Medicine**, v. 4, n. 4, p. 572-581, 1992.

CHAVES, D. F. **Respostas clínicas, hematológicas e bioquímicas de ovinos submetidos à transfusão sanguínea autóloga**. 2009. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária), Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró-RN, 2009.

CHIN-YEE, I.; ARYA, N.; D´ALMEIDA, M. S. The red cell storage lesion and its implication for transfusion. **Transfusion Science**, v. 18, n.3, p 447-458, 1997.

COSTA JÚNIOR, J. D. **Avaliação do sangue total de cães armazenado em bolsas plásticas contendo CPDA-1 e CPD/SAG-M**. 2006. 39f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2006.

COSTA JÚNIOR, J.; VIANA, J. A.; RIBEIRO FILHO, J. D.; FAVARATO, E. S.; MATA, L. C.; ARGÔLO NETO, N. Parâmetros bioquímicos e hemogasométricos do sangue total canino armazenado em bolsas plásticas contendo CPDA-1 e CPD/SAG-M. **Ciência Rural**, v.38, n.2, p.378-383, 2008.

COUTO, C.G. Anemia In: NELSON, R.W.; COUTO, C.G. (Eds.). **Small animal internal medicine**. 2 ed. St. Louis: Mosby, 1998. p. 1160-1173.

DEGERNES, L. A.; CROSIER, M. L.; HARRISON, L. D.; DENNIS, P. M.; DIAZ, D. E. Autologous, homologous, and heterologous red blood cell transfusions in cockatiels (*Nymphicus hollandicus*). **Journal of Avian Medicine and Surgery**, v. 13, n. 1, p. 2-9, 1999a.

DEGERNES, L. A.; HARRISON, L. D.; SMITH, D. W.; NEWTON, H. M.; ROSS, C. E.; DIAZ, D. E. Autologous, homologous, and heterologous red blood cell transfusions in conures of the genus *Aratinga*. **Journal of Avian Medicine and Surgery**, v. 13, n. 1, p. 10-14, 1999b.

DURHAM, A. E. Blood and plasma transfusion in the horse. **Equine Veterinary Education**, v. 8, n. 1, p. 8-12, 1996.

ELFATH, M. D. Is it time to focus on preserving the functionality of red blood cells during storage. **Transfusion**, v. 46, p. 1469-1470, 2006.

ESPINOSA, J. A. L. Apuntes para la historia de las transfusiones sanguíneas. **Revista Cubana de Medicina General Integral**, v.13, n.4, p. 405-408, 1997.

FERREIRA, R. R. F.; GOPEGUI, R. R.; MAIA, S.; MATOS, A. J. F.. Laboratory analysis of canine packed red blood cells effects of collection and processing on haemolysis, haemoglobin concentration, haematocrit and blood culture. **Comparative Clinical Pathology**, 2013.

HART, K. A. Blood Transfusion and Transfusion Reactions. In: SPRAYBERRY, K.A.; ROBINSON, N. E. (Eds.). **Robinson's Current Therapy in Equine Medicine**. 7ed. St Louis Missouri: Elsevier, 2015. p. 484-489.

HESS, J. R. Red cell storage. **Journal of proteomics**, v. 73, p. 368-373, 2010.

HESS, J. R.; GREENWALT, T.J. Storage of blood cells: new approaches. **Transfusion Medicine Reviews**, v.16, n.4, p. 238-239, 2002.

HOHENHAUS, A. E. Management of the inpatient canine blood donor. **Problems in veterinary Medicine,** v. 4, n. 4, p. 565-571, 1992.

HRINCĂ, G. Blood groups in the carpathian breed goats. **Lucrari Stiintifice Journal - Seria Zootehnie**, v. 5, n. 18, 2013.

HUBER, P. C.; ALMEIDA, W. P.; FÁTIMA, A. Glutationa e enzimas relacionadas: papel biológico e importância em processos patológicos. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1170-1179, 2008.

HUNT, E.; MOORE, J. S. Use of blood and blood products. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.6, n.1, p.133-147, 1990.

KLEIN, H. G.; ANSTEE, D. J. **Mollison's Blood Transfusion in Clinical Medicine**. 11 ed. Londres: Blackwell, 2005. 774p.

KRISTENSEN, A. T.; FELDMAN, B. F. Bancos de sangue e medicina tranfusional. In: ETTINGER, E. J.; FELDMAN, E. C. (Eds). **Tratado de Medicina Interna de Pequenos Animais**. 4 ed. São Paulo: Manole, 1997. p. 497-517.

KOCH, C. G.; LI, L.; SESSLER, D. I.; FIGUEROA, P.; HOELTGE, G. A.; MIHALJEVIC, T.; BLACKSTONE, E. H. Duration of red-cell storage and complications after cardiac surgery. **The New England Journal of Medicine**, v. 358, n.12, p. 1229–1239, 2008.

LACERDA, L. Transfusão sangüínea em veterinária: desafios a vencer. In: GONZÁLEZ, F. H. D., SANTOS, A. P. (Eds.). **II Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil**, 2005, Porto Alegre. Anais do II Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil. Porto Alegre: UFRGS, 2005. p. 62-81.

LAPOSY, C. B.; NOGUEIRA, R. M. B. Avaliação bioquímica e hemogasométrica de bolsas de sangue (CPDA-1) caninas mantidas sob refrigeração. **Colloquium Agrariae**, v. 7, n.2, p. 08-13, 2011.

LEAL-NOVAL, S. R.; JARA-LOPEZ, I.; GARCIA-GARMENDIA, J. L.; MARINNIEBLA, A.; HERRUZO- AVILES, A.; CAMACHO-LARANA, P.; LOSCERTALES, J. Influence of erythrocyte concentrate storage time on postsurgical morbidity in cardiac surgery patients. **Anesthesiology**, v. 98, p. 815–822, 2003.

LUCAS, R. L.; LENTZ, K. D.; HALE, A. S. Collection and preparation of blood products. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v.19, n. 2, p. 55-62, 2004.

MADJDPOUR, C.; SPAHN, D. R. Allogeneic red blood cell transfusions: efficacy, risks, alternatives and indications. **British Journal of Anaesthesia,** v. 95, n. 1, p. 33-42, 2005.

MALOUIN, A.; SILVERSTEIN, D. Shock. In: BONAGURA, J. D.; TWEDT, D. C. (Eds.). **KIRK'S Current Veterinary Therapy XIV**. 14 ed. St. Louis Missouri: Saunders, Elsevier, 2009. p. 2-8.

MOLLISON, P. L; ENGELFRIET, C. P; CONTRERAS, M. **Blood Transfusion in Clinical Medicine**. Nova York: Blackwell Science, 1997.

MOORE, B. P. L. Complications of blood transfusion. **Canadian Medical Association Journal**, v. 68, n. 4, p. 332–33, 1953.

MORAIS, H. 1.; DEARO, A. C. O.; PEREIRA, P; M.; REICHMANN, P. Fluidoterapia e Transfusão sanguínea. In: ANDRADE, S. F. (Ed.). **Manual de Terapêutica Veterinária**. 2 ed. São Paulo: Roca, 2002. p. 477-501.

MUDGE, M. C. Blood Transfusion in Large Animals. In: WEISS, D. J.; WARDROP, K. J. (Eds). **Schalm's Veterinary Hematology**. 6 ed. Ames, Iowa (USA): Wiley-Blackwell, 2010. p. 757–762.

MUDGE, M. C.; MACDONALD, M. H.; OWENS, S. D.; TABLIN, F. Comparison of 4 Blood Storage Methods in a Protocol for Equine Pre-operative Autologous Donation. **Veterinary Surgery**, v. 33, p.475–486, 2004.

NGUYEN, T. C. Genetic systems of red cell blood groups in goats. **Animal Genetics**, v. 21, n. 3, p. 233-245, 1990.

NIINISTÖ, K.; RAEKALLIO, M.; SANKARI, S. Storage of equine red blood cells as a concentrate. **The Veterinary Journal**, v. 176, n.2, p. 227–231, 2008.

PUGH, D. G. **Clínica de ovinos e caprinos**. São Paulo: Roca, 2004.

RACEK, J.; HERYNKOVÁ, R.; HOLEČEK, V.; FALTYSOVÁ, J.; KREJČOVÁ, I. What is the Source of Free Radicals Causing Hemolysis in Stored Blood? **Physiological Research**, v. 50, p. 383-388, 2001.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica Veterinária**: Um Tratado de Doenças dos Bovinos, Ovinos, Suínos, Caprinos e Equinos. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012. 1737 p.

RAZOUK, F. H.; REICH, E. M. V. Caracterização, produção e indicação clínica dos principais hemocomponentes. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 26, p. 126-134, 2004.

REGAN, F.; TAYLOR, C. Blood transfusion medicine. **British Medical Journal**, v. 325, p.143-147, 2002.

REICHMANN, P.; DEARO, A. C. de O. Transfusão de sangue e seus derivados em grandes animais. **Semina Ciências Agrárias**, v. 22, n.2, p. 223-228, 2001.

RIBEIRO FILHO, J. D.; ALMEIDA, C. T.; GONÇALVES, R. C.; KOHAYAGAWA, A.; CURI, P. R. Alterações bioquímicas de sangue bovino durante a conservação por 35 dias, em frascos de vidro com ACD e bolsas plásticas com CPDA-1. **Veterinary Zootecnic**, v.5, p.97-103, 1994a.

RIBEIRO FILHO, J. D.; ALMEIDA, C. T.; GONÇALVES, R. C.; KOHAYAGAWA, A.; CURY, P. R. Alterações hemogasométricas de sangue bovino durante a conservação em frascos de vidro com ACD e bolsas plásticas com CPDA-1, por 35 dias. **Veterinary Zootecnic**, v.6, p.77-84, 1994b.

RUDMAN, S. V. **Textbook of Blood Banking and Transfusion Medicine**. 2 ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2005. 686p.

SMITH, M. C.; SHERMAN, D. M. Blood, lymph and immune systems. In: SMITH, M. C.; SHERMAN, D. M. (Eds.). **Goat medicine**. 2 ed. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell, 2009. p.275-318.

SOLDAN, A. Blood transfusion in cattle. **In Practice**, v.21, n.10, p.590-595, 1999.

SOUSA, R. S. **Avaliação da transfusão sanguínea homóloga em ovinos**. 2012. 169f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró/RN, 2012.

SOUSA, R. S.; BARRETO JÚNIOR, R. A ; SOUSA, I. K. F.; SOARES, H. S.; BARROS, I. O. ; MINERVINO, A. H. H.; ORTOLANI, E. L. Avaliação de sangue total ovino armazenado em bolsas de sangue (CPDA-1) mantido sob refrigeração. In: VIII Congresso Brasileiro de Buiatria, 2009, Belo Horizonte. Anais do VIII Congresso Brasileiro de Buiatria. **Ciência Animal Brasileira**. Goiânia: UFG, 2009. p. 290-295.

SWISHER, S. N.; YOUNG, L. E. The blood grouping systems of dogs. **Physiological Reviews**, v. 41, p. 495- 520, 1961.

TAVARES, M. D. **Avaliação hematológica, bioquímica e hemogasométrica de sangue caprino armazenado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M**. 2013. 73f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2013.

THORNTON, G. Blood transfusion. In: KIRK, R. W. (Ed.). **Current Veterinary Therapy**. Philadelphia: Saunders, 1968. p. 8-15.

TIWARI, A. J.; BALEKAR, N. S.; JAIN, D. K. Blood Group Systems and Blood Transfusion of Animals. **International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research** v. 1, n. 2, p. 50-54, 2009.

TOMCZAK, A. C. T. Q.; GRILO, K. T. M.; CASTRO, J. M.; MACHADO, A. M. B.; LEONART, M. S. S.; NASCIMENTO, A. J. Estudo de métodos laboratoriais para o controle de qualidade de unidades transfusionais eritrocitárias no Centro de Hematologia e Hemoterapia do Paraná (Hemepar), Brasil. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 32, n. 3, p. 209-214, 2010.

UMARU, M. A.; BELLO, A.; HASSAN, L. U.; ADAMU. U. Preliminary Clinical Observations Following Blood Transfusion in the Caprine. **Animal Production Research Advances**, v. 5, n. 3, 2009.

VANE, L. A.; GANEM, E. M. Doação Homóloga versus Autóloga e Substitutos da Hemoglobina. In: CAVALCANTI, I. L.; CANTINHO, F. A.; FREITAS, A. A. (Eds.). **Medicina Perioperatória**. Rio de Janeiro: Sociedade de Anestesiologia do Estado do Rio de Janeiro, 2006. 1356 p.

WARDROP, K. J. Selection of anticoagulants preservatives for canine and feline blood storage. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 25, p. 1263-1276, 1995.

WARDROP, K. J.; YOUNG, J.; WILSON, E. An in vitro evaluation of storage media for the preservation of canine packed red blood cells. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 23, n. 3, p. 83-88, 1994.

WEINBERG, J.A.; MCGWIN, G. JR.; VANDROMME, M. J.; MARQUES, M. B.; MELTON, S. M.; REIFF, D. A.; KERBY, J. D.; RUE, L. W. Duration of red cell storage influences mortality after trauma. **The Journal of Trauma**, v. 69, n.6, p. 1427–1432, 2010.

ZALLEN, G.; OFFNER, P. J.; MOORE, E. E.; BLACKWELL, J.; CIESLA. D. J.; GABRIEL, J.; DENNY, C.; SILLIMAN, C. C. Age of transfused blood is an independent risk factor for postinjury multiple organ failure. **American Journal of Surgery**, v. 178, p. 570–572, 1999.

2 CAPÍTULO 2 – RESPOSTAS CLÍNICA, HEMATOLÓGICA E REAÇÕES TRANSFUSIONAIS DE CAPRINOS SUBMETIDOS À TRANSFUSÃO SANGUÍNEA HOMÓLOGA

Clinical, hematologic responses and transfusion reactions of goats submitted to homologous blood transfusion

Artigo submetido à Revista Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia – Quallis A2.

Respostas clínica, hematológica e reações transfusionais de caprinos submetidos à transfusão sanguínea homóloga

[*Clinical, hematologic responses and transfusion reactions of goats submitted to homologous blood transfusion*]

N. B. S. Fonseca[1*], J.S. Gameleira[1], J. M. Cavalcante[1], I. O. Barros[1], F.J.A. Souza[1], E. I. B. Lemos[1], A. Souza-Neto[1], F.F. Feitoza-Neto[1], A. C. Costa[1], R. G. Vale[1], T. L. Nunes[1], R.S. Sousa[2], A.H.H. Minervino[3], R.A. Barrêto-Júnior[1]

[1]Universidade Federal Rural do Semi-Árido – Mossoró, RN
[2]Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade de São Paulo – São Paulo, SP
[3]Instituto de Biodiversidade e Floresta – Universidade Federal do Oeste do Pará – Santarém, PA
*nayanna_brunna@yahoo.com.br

RESUMO

No presente trabalho avaliaram-se as respostas clínica, hematológica e reações transfusionais de caprinos submetidos à transfusão homóloga de sangue total fresco ou conservado. Foram utilizados 18 caprinos hígidos, adultos, os quais foram submetidos à indução de anemia e, seis horas após, receberam transfusão de sangue total armazenado em bolsas CPDA-1 de acordo com os grupos experimentais: G0 (recebeu sangue fresco); e G15 e G35 (receberam sangue armazenado por 15 e 35 dias, respectivamente). As reações transfusionais foram registradas durante o decorrer da transfusão (1,25±0,28 horas), enquanto que parâmetros clínicos e hematológicos foram avaliados: antes da indução da anemia; 6 horas após indução e antes de transfusão; 1, 6, 12, 24 e 96 horas e 8, 16 e 32 dias após a transfusão. Todos os grupos apresentaram reações transfusionais, entre as quais fasciculações e vocalização ocorreram com maior frequência. Na análise hematológica, os animais que receberam sangue fresco apresentaram maior volume globular, número de hemácias e concentração de hemoglobina quando comparados aos animais que receberam sangue armazenado. Apesar das alterações observadas, a transfusão de sangue homólogo fresco ou conservado por até 35 dias, conforme realizada neste estudo, mostrou-se segura para ser utilizada na prática clínica na espécie caprina.

Palavras-chave: Hemoterapia, hematologia, bodes, anemia, hemoparasitas.

ABSTRACT

The present study evaluated the clinical, hematological and transfusion reactions of goats submitted to the homologous transfusion of fresh or preserved whole blood. Eighteen healthy adult goats were submitted to induction of anemia, and six hours later, they received transfusion of whole blood stored in CPDA-1 bags according to the experimental groups: G0 (received fresh blood); And G15 and G35 (received blood stored for 15 and 35 days, respectively). The transfusion reactions were recorded during the transfusion (1.25 ± 0.28 hours), while clinical and hematological parameters were evaluated: before the induction of anemia; 6 hours after induction and before transfusion; 1, 6, 12, 24 and 96 hours and 8, 16 and 32 days after transfusion. All groups presented transfusion reactions, among which fasciculations and vocalization occurred more frequently. In the hematological analysis, the animals that received fresh blood presented higher globular volume, number of red blood cells and hemoglobin concentration when compared to the animals that received stored blood. Despite the changes observed, transfusion of fresh or conserved homologous blood for up to 35 days, as performed in this study, was shown to be safe to use in clinical practice in goats.

Key-words: Haemotherapy, hematology, goats, anemia, hemoparasites.

2.1 INTRODUÇÃO

A transfusão sanguínea é a terapia intravenosa com sangue total ou seus subprodutos, sendo que a transfusão de sangue total ainda é a mais utilizada na medicina veterinária (Lacerda, 2005) e possui diversas indicações terapêuticas, como hipóxia tecidual por perda de sangue, anemia hemolítica imunomediada, doença na medula óssea com diminuição da produção de hemácias, dentre outras (McDevitt *et al*., 2011).

Muitos animais toleram perda aguda de 10 a 15% do volume sanguíneo sem necessitar de transfusão. Porém, quando a perda aguda de sangue é maior do que 20% frequentemente é necessário realizar transfusão sanguínea (Malouin e Silverstein, 2009). Em caprinos, a necessidade de transfusão ocorre normalmente devido a anemia decorrente da presença de endo e ectoparasitas ou deficiências nutricionais. No entanto, outras causas como traumas e intervenções cirúrgicas são observadas na rotina de atendimento médico veterinário (Pugh, 2004).

O sangue total utilizado em transfusões pode ser fresco ou armazenado sob refrigeração (1-6 °C). O tempo de armazenamento varia com a solução anticoagulante

utilizada (Lacerda, 2005). Estudos mostram que o sangue total caprino pode ser armazenado por até 42 dias em bolsas CPDA-1 (Citrato, fosfato, dextrose e adenina) ou CPD/SAG-M (Citrato, fosfato, dextrose/Salina, adenina, glicose - manitol), sendo preferível o uso das bolsas CPDA-1 (Tavares, 2013).

A coleta de sangue para transfusão deve ser feita em bolsas apropriadas contendo anticoagulantes acrescidos ou não de fatores nutricionais ou preservantes para hemácias (Reichmann e Dearo, 2001). As soluções conservadoras são fonte de energia para manutenção do metabolismo eritrocitário, porém ao longo do armazenamento a sobrevivência das hemácias é limitada devido à diminuição da fonte energética e senescência celular (Wardrop *et al*., 1994). Dessa forma, o sangue armazenado sofre alterações gradativas ao longo do período de conservação, as quais são conhecidas como lesões de armazenamento. Essas alterações podem inviabilizar a utilização do sangue ou diminuir sua eficácia após a transfusão (Sousa *et al*., 2012a).

Para realização de transfusão de forma segura é importante que as hemácias colhidas permaneçam viáveis antes e após a transfusão, além disso é necessário otimizar as técnicas de transfusão, minimizando complicações e morbidade (McDevitt *et al*., 2011). Porém, mesmo após um bom planejamento da terapia transfusional, as reações transfusionais podem ocorrer. Na medicina veterinária a reação adversa transfusional mais relatada é a reação transfusional não hemolítica febril (RTNHF), a qual é caracterizada pela elevação da temperatura do animal em 1°C ou mais durante ou logo após uma transfusão e que não seja associada a uma doença subjacente ou outra reação transfusional (Bracker e Drellich, 2005).

A transfusão sanguínea é uma prática comum na clínica de pequenos ruminantes, apesar disto, um dos poucos estudos existentes sobre hemoterapia em caprinos (Umaru *et al*., 2009) utiliza sangue conservado por período de apenas dois dias, com volume transfundido de apenas 10 mL/kg e avalia pouquíssimas variáveis. Desta forma, o que se observa muitas vezes é essa medida terapêutica sendo utilizada sem critérios adequados e desconsiderando possíveis riscos inerentes à transfusão.

O presente trabalho teve por objetivo avaliar as respostas clínica, hematológica e reações transfusionais de caprinos submetidos à transfusão homóloga de sangue total fresco ou armazenado por 15 e 35 dias.

2.2 MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi realizado no Laboratório de Medicina Interna Veterinária (LABMIV) da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), em Mossoró-RN, cujas coordenadas geográficas são 5º11" de latitude sul e 37º20" de longitude oeste. Esse estudo respeitou os padrões éticos e cuidados com os animais, sendo aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) dessa instituição, sob o número de processo 23091.005234/2013-08 (Parecer nº 28/2013).

Foram utilizados 18 caprinos machos, adultos, SRD, peso médio de 21,75 ± 3,48 Kg, os quais foram considerados saudáveis após exame físico, hemograma e exame parasitológico de fezes. Todos os animais foram submetidos a um período de adaptação de 30 dias e nenhum caprino havia sido submetido previamente a qualquer tipo de transfusão de sangue. Com o intuito de reduzir custos e maximizar a logística experimental, os dezoito animais utilizados para a transfusão de sangue também serviram como doadores, assim, no momento da indução da anemia, o sangue foi coletado em bolsas evitando-se desperdício desse importante componente corpóreo. Além disso, utilizaram-se mais seis animais externos ao experimento apenas como doadores, os quais foram igualmente examinados por meio de exame físico e hemograma para verificar se estavam saudáveis e aptos para doação de sangue.

A anemia aguda foi induzida em todos os 18 caprinos através da retirada de 30% do seu volume sanguíneo, medido de acordo com o cálculo do volume total de sangue dos animais, que segundo Liebich *et al*. (2016) corresponde a 8% do seu peso corporal. A porcentagem de 30% para indução de anemia aguda foi baseada em estudos prévios ainda não publicados com perda aguda de sangue em caprinos. Seis horas após a indução de anemia, o sangue total colhido em bolsas CPDA-1 foi transfundido para os animais de acordo com os grupos experimentais: G0 (grupo controle) recebeu transfusão de sangue fresco (coletado e mantido em temperatura ambiente por no máximo 6 horas); G15 (grupo 15 dias) recebeu transfusão de sangue armazenado por 15 dias; e G35 (grupo 35 dias) recebeu transfusão de sangue armazenado por 35 dias. Cada grupo experimental foi composto por 6 animais apresentando pesos corporais semelhantes.

Inicialmente, a tricotomia e assepsia da região cervical foram realizadas para a coleta de sangue. O animal foi, posteriormente, posicionado em decúbito lateral para a punção venosa jugular. O sangue coletado foi armazenado em bolsas plásticas estéreis do tipo CPDA-1 (Linha CompoFlex®, Fresenius Kabi), contendo solução anticoagulante composta por citrato, fosfato, dextrose e adenina. As bolsas do G15 e G35 foram mantidas sob refrigeração

a uma temperatura entre 2º e 6ºC imediatamente após a coleta, e foram homogeneizadas diariamente (10 minutos/dia) durante o decorrer do armazenamento utilizando-se homogeneizador para bolsa sanguínea (BHB_800, Benfer, Brasil) para haver a mistura de todo o sangue com a solução conservante.

Antes da transfusão, as bolsas foram retiradas da geladeira e deixadas à temperatura ambiente por cerca de 30 minutos. Nesse momento, amostras de sangue foram retiradas das bolsas para realização da análise hematológica e microbiológica utilizando Sistema Hemobac Trifásico Pediátrico (Probac®, Brasil) composto por um laminocultivo de duas faces contendo ágar-chocolate, ágar Sabouraud e ágar MacConkey. Posteriormente, a bolsa foi conectada a um equipo de transfusão (SANGODROP B LLM, Fresenius Kabi) e cateter que foi inserido na veia jugular. Cada animal recebeu 20 mL de sangue total por kg de peso corporal durante a transfusão (Sousa *et al*., 2014).

Nos primeiros 15 minutos da transfusão, o sangue foi infundido em menor velocidade (0,1 mL de sangue/kg/15minutos) para verificação de possíveis reações adversas, sendo a velocidade aumentada para 20 mL de sangue por Kg de peso corpóreo por hora (Reichmann e Dearo, 2001). Durante a realização da transfusão, a temperatura do ambiente variou de 22 a 28ºC.

As reações transfusionais foram registradas durante toda a transfusão, enquanto que os parâmetros hematológicos foram avaliados nos seguintes tempos: antes da indução da anemia (TC0); 6 horas após indução da anemia e antes de transfusão (TC1); 1, 6, 12, 24 e 96 horas após a transfusão (T1, T6, T12, T24 e T96, respectivamente); 8, 16 e 32 dias após a transfusão (T8d, T16d e T32d, respectivamente). Os parâmetros clínicos foram avaliados até o T8d.

Os parâmetros clínicos avaliados nos momentos pré-determinados foram frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR) e temperatura retal. As frequências cardíaca e respiratória foram mensuradas com auxílio de um estetoscópio, no intervalo de um minuto, enquanto a temperatura foi aferida com o uso de termômetro clínico por três minutos (Radostits *et al*., 2012).

A avaliação hematológica foi obtida a partir de amostras de sangue total colhidas em tubos a vácuo contendo ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) para realização do hemograma e em tubos contendo citrato de sódio para testes de coagulação (Tempo de Protrombina - TP; e o Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado - TTPA). Os testes de TP e TTPA foram realizados em aparelho Coagulômetro Max Clot de 4 canais (MedMax, Brasil) utilizando kits comerciais da Medmax® e Labtest®.

As contagens de hemácias e leucócitos foram realizadas pelo método manual em câmara de Neubauer melhorada espelhada conforme Birgel (1982) e Garcia-Navarro (2005), com as diluições de acordo com Mbassa e Poulsen (1991). O esfregaço sanguíneo, coloração e contagem diferencial de leucócitos (Neutrófilos segmentados, Eosinófilos, Linfócitos e Monócitos) foram feitos segundo recomendações de Kerr (2005).

A mensuração do volume globular (VG) foi obtida em centrífuga para microhematócrito (Q222HM2, Quimis, Brasil) com velocidade de 13603 x *g* por 15 minutos (Birgel, 1982). A dosagem do teor de hemoglobina foi realizada pelo método da cianometahemoglobina, com leitura (λ=540nm) em analisador bioquímico semi-automático (BIO-2000 IL, Bioplus, Brasil), conforme sugerido por Birgel (1982).

As análises estatísticas foram processadas com auxílio do programa estatístico GRAPHPAD PRISM 5.0. O nível de significância adotado foi de 5 %. Para verificar a distribuição dos dados obtidos nas diversas variáveis estudadas os mesmos foram submetidos ao teste de Kolmogorov e Smirvov. A análise estatística para comparação entre as bolsas dos três grupos foi realizada através de análise de variância seguida do teste de Tukey para comparação de médias. A avaliação dos animais nos diferentes momentos foi realizada através de análise de variância de duas vias com medidas repetidas no tempo (Two-way repeted mensure ANOVA), seguida de teste de comparação de médias de Tukey para comparação entre os grupos nos diferentes tempos e teste de Bonferroni para comparação entre o TC0 e o TC1 e os tempos subsequentes. As reações transfusionais foram avaliadas por meio de estatística descritiva.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Optou-se por bolsas do tipo CPDA-1, pois são as mais utilizadas na medicina veterinária (Lanevschi e Wardrop, 2001; Sousa *et al*., 2013), além disso, sua solução conservante composta por fosfato, dextrose e adenina aumenta a viabilidade das hemácias de caprinos permitindo o seu armazenamento por até 42 dias segundo estudo anterior (Tavares, 2013). A análise microbiológica das bolsas nesse estudo foi negativa para qualquer crescimento bacteriano.

Na avaliação das bolsas (Tab. 1) não foi observada diferença entre o sangue total fresco e o armazenado por 15 e 35 dias para o volume globular, número de hemácias e número de leucócitos, corroborando com o estudo de Tavares (2013), onde o sangue caprino armazenado em bolsas CPDA-1 por até 35 dias também não diferiu quanto a esses parâmetros

ao longo do período de armazenamento. Sendo assim, as bolsas de sangue utilizadas nesse estudo conservaram de forma satisfatória o número de hemácias e leucócitos nos diferentes períodos de armazenamento.

Tabela 1. Valores médios (X) e desvios padrão (S) das variáveis hematológicas do sangue total de caprinos armazenado em bolsas CPDA-1 imediatamente após a coleta (B0), armazenado por quinze dias (B15) e armazenado por 35 dias (B35).

Variável	**B0**	**B15**	**B35**
	X ± S	X ± S	X ± S
Volume Globular (%)	25,17 ± 0,98	23,50 ± 4,68	24,33 ± 4,63
Número de hemácias (x 10^6)	16,22 ± 1,51	16,72 ± 2,84	15,82 ± 2,54
Hemoglobina (g/dL)	$9,30 \pm 0,18^A$	$7,28 \pm 1,38^B$	$9,87 \pm 1,63^A$
Número de leucócitos (x 10^3)	4,54 ± 0,64	3,35 ± 1,52	4,33 ± 2,14

Letras maiúsculas distintas nas linhas indicam diferença estatística entre os grupos pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

A fim de minimizar a ocorrência de reações transfusionais, a administração de sangue foi feita inicialmente de forma lenta conforme recomendado por Reichmann e Dearo (2001) e Mudge (2010). Além disso, infundiu-se o volume de 20 mL/Kg por ser considerado uma quantidade segura para ser administrada, conforme estudos (Hunt e Moore, 1990; Smith e Sherman, 2009; Sousa *et al*., 2014).

Apesar das precauções tomadas, nesse estudo foram observadas reações transfusionais (Tab. 2), entre as quais fasciculações ocorreram com maior frequência (55,5% dos animais) acometendo animais dos três grupos. Para minimizá-las diminuiu-se a velocidade de infusão. Segundo Sousa *et al*. (2014), a presença de tremores musculares ou fasciculações é indicativo de RTNHF de efeito inflamatório.

A vocalização também ocorreu nos três grupos, acometendo 44,4% dos animais (Tab. 2) desse estudo. Segundo Grandim (1997) as vocalizações são observações comportamentais comuns em caprinos quando estão sob condições de estresse e desconforto.

Outra reação que pode ocorrer é o timpanismo. Geralmente, o gás produzido da eructação é eliminado através de eructação ou ruminação. Porém, obstruções extra ruminais do fluxo de saída do gás promove o acúmulo deste no saco dorsal do rúmen causando o timpanismo secundário, onde o animal apresenta dificuldade na eructação (Smith e Sherman, 2009). Nesse estudo, foi observado timpanismo leve em 3 animais do G0 e eructação em 5 animais do G0 e em 1 animal do G15 (Tab. 2). Essas ocorrências foram relacionadas ao período de tempo que os animais permaneceram em decúbito durante a transfusão, a qual teve duração média de 1,25±0,28 horas, prejudicando a eliminação dos gases.

Quando ocorre grave perda sanguínea, o fluxo sanguíneo gastrintestinal também diminui devido à vasoconstrição simpática nessa região que ocorre como mecanismo compensatório para desvio de sangue para órgãos vitais como cérebro e coração (Klabunde, 2011). Sendo assim, quando ocorre a transfusão, o volume de sangue é redistribuído, permitindo que o sistema gastrintestinal retorne ao seu funcionamento normal. Isto esclarece porque alguns animais defecaram durante a transfusão (Tab. 2).

A taquipnéia durante a transfusão foi observada em apenas 1 animal do G35 no início da transfusão e para sua resolução reduziu-se a velocidade de infusão (Tab. 2). Segundo Sousa *et al*. (2014) este sinal clínico durante a transfusão pode estar relacionado com a taxa de infusão.

Tabela 2. Manifestações clínicas observadas em caprinos durante a transfusão de sangue total coletado e transfundido na forma de sangue fresco (G0), armazenado por 15 dias (G15) ou armazenado por 35 dias (G35).

Variável	**G0**	**G15**	**G35**
Fasciculações	04/06	01/06	05/06
Vocalização	02/06	03/06	03/06
Eructação	05/06	01/06	0
Defecação	0	04/06	01/06
Timpanismo	03/06	0	0
Taquipnéia	0	0	01/06

Após a perda aguda de sangue houve aumento da frequência cardíaca acima do considerado normal para a espécie (66-80 bpm) (Pugh, 2004) nos 3 grupos experimentais, sendo que o G0 e G15 apresentaram aumento maior da frequência cardíaca no TC1 quando comparado ao G35 (Tab. 3). Argôlo (2014) ao avaliar às respostas clínicas de caprinos à perda 30% do volume sanguíneo também verificou a ocorrência de taquicardia logo na primeira hora após a indução, estendendo-se até 12h após a perda sanguínea aguda. Esse aumento da frequência cardíaca indica a resposta fisiológica do animal tentando manter o débito cardíaco e a oxigenação dos tecidos após perda significativa do volume sanguíneo.

Com a transfusão a frequência cardíaca reduziu numericamente ao longo do tempo experimental (Tab. 3) na tentativa de manter a homeostase orgânica perante o aumento da volemia. A frequência cardíaca retornou aos valores basais após 1h de transfusão no G0 e 12h de transfusão no G15, mas não necessariamente ficaram dentro intervalo de referência para a espécie, o que pode ser atribuído ao estresse durante à manipulação desses animais. Enquanto que no G35 ela não se alterou em relação ao tempo basal e após 24h da transfusão a

frequência cardíaca do G35 estava dentro do intervalo de referência para a espécie. Sousa *et al*. (2012b) e Sousa *et al*. (2014) ao realizar transfusão autóloga e homóloga respectivamente em ovinos, também observaram redução da frequência cardíaca após a infusão. Segundo Hunt e Moore (1990) após transfusão de quantidades adequadas de sangue deve ocorrer melhoria imediata da capacidade de transporte de oxigênio e dos sinais clínicos, com redução da frequência cardíaca e da ansiedade do animal.

A frequência respiratória não diferiu entre grupos e nem entre os tempos estudados (Tab. 3), corroborando com o estudo realizado em ovinos transfundidos com sangue fresco ou armazenado por Sousa *et al*. (2014), onde estes animais também não apresentaram diferenças significativas da frequência respiratória entre os grupos nem entre tempos estudados.

Nesse estudo observou-se aumento significativo da temperatura no TC1 do G15; T6 do G0; e T8d do G0 e G15 (Tab. 3). Porém, apenas no T6 do G0 o aumento de temperatura observado em 4 animais foi característico de reação transfusional, que segundo Sharma *et al*. (2011) a elevação de 1°C ou mais na temperatura dentro de 24h pós-transfusão quando comparada com a basal é um parâmetro para determinar se houve RTNHF. Essa reação pode ter ocorrido devido à presença de aloanticorpos do receptor agindo contra antígenos presentes nas plaquetas e leucócitos do doador (Brubaker, 1990), liberando pirógeno endógeno ou devido à liberação de citocinas (Sharma *et al*., 2011). Dos quatro animais do G0 que apresentaram RTNHF no T6, dois deles apresentaram elevação da temperatura acima dos valores de referência para a espécie, porém no T12 esse parâmetro já havia retornado ao intervalo de referência normal (38,8°- 40°C) (Pugh, 2004).

Tabela 3. Valores médios (X) e desvios padrão (S) dos parâmetros clínicos de caprinos submetidos à perda sanguínea e, posteriormente, à transfusão homóloga de sangue total fresco (G0), armazenado em bolsas CPDA-1 por 15 dias (G15) ou 35 dias (G35), nos tempos analisados.

Tempos	**Frequência cardíaca (bpm)**			**Frequência respiratória (mpm)**			**Temperatura retal (°C)**		
	G0 (X±S)	**G15 (X±S)**	**G35 (X±S)**	**G0 (X±S)**	**G15 (X±S)**	**G35 (X±S)**	**G0 (X±S)**	**G15 (X±S)**	**G35 (X±S)**
TC0	82,50 ± 11,54	78,67 ± 9,46	69,83 ± 12,54	23,17 ± 5,60	23,00 ± 4,47	21,67 ± 4,32	38,85 ± 0,27	39,23 ± 0,55	38,97 ± 0,20
TC1	131,67 ± 16,40^{Aa}¥	145,00 ± 11,58^{Aa}¥	97,83 ± 20,38^{B}	18,67 ± 2,88	29,00 ± 8,46	32,67 ± 30,38	39,05 ± 0,79^{B}	39,98 ± 1,01^{A}	38,82 ± 0,37^{B}
T1	101,00 ± 10,12^{a}	115,33 ± 17,45^{a}¥	102,00 ± 22,61	20,00 ± 4,20	27,83 ± 7,83	29,50 ± 14,79	39,62 ± 1,23	39,65 ± 0,54	39,08 ± 0,17
T6	101,50 ± 19,16^{a}	119,33 ± 17,28^{a}¥	97,67 ± 21,51	19,00 ± 2,00	18,83 ± 8,21	31,83 ± 29,03	40,05 ± 1,23^{A}¥	39,32 ± 0,35^{AB}	39,07 ± 0,23^{B}
T12	90,67 ± 13,79^{b}	97,17 ± 26,56^{b}	83,67 ± 18,79	20,00 ± 5,06	24,17 ± 5,98	21,00 ± 8,58	38,92 ± 0,27	39,43 ± 0,38	38,78 ± 0,27
T24	82,17 ± 36,07^{b}	101,17 ± 17,35^{b}	77,67 ± 11,22	17,67 ± 4,18	27,33 ± 4,84	25,00 ± 10,55	38,85 ± 0,46	39,17 ± 0,12	38,80 ± 0,24
T96	73,17 ±	104,17 ±	74,00 ±	19,17 ±	42,17 ±	20,83 ±	38,58 ±	39,38 ±	38,82 ±

	13,80^{Bb}	24,58^{Ab}	11,12^{B}	3,87	9,39	3,71	0,50	0,17	0,31
T8d	100,00 ± 23,44^{Aa}	117,33 ± 28,27^{Aa}¥	68,00 ± 18,24^{B}	25,83 ± 5,95	35,67 ± 9,91	22,50 ± 7,94	39,77 ± 1,15^{A}	40,00 ± 0,51^{A}	38,75 ± 0,48^{B}

Letras maiúsculas distintas na mesma linha indicam diferença significativa entre os grupos no mesmo tempo pelo teste de Tukey ($p<0,05$). Letras minúsculas distintas na mesma coluna indicam diferença significativa entre o momento TC1 (imediatamente antes da transfusão de sangue) e os demais momentos de avaliação teste de Bonferroni ($p<0,05$). O símbolo ¥ na mesma coluna indica diferença significativa entre o momento TC0 (antes da perda de sangue) e os demais momentos de avaliação pelo teste de Bonferroni ($p<0,05$).

Após a perda sanguínea aguda o volume globular pode permanecer normal por até 12 horas, devido o tempo necessário para que ocorra a redistribuição do fluido e os efeitos da contração esplênica (Mudge, 2010). Nesse estudo, a retirada de 30% do volume sanguíneo por uma única flebotomia em caprinos resultou em anemia aguda verificada pela redução significativa do volume globular, número de hemácias e hemoglobina de todos os grupos 6 horas após a indução da anemia, mostrando que a metodologia utilizada para indução da anemia obteve êxito (Tab. 4).

Após a transfusão, na comparação entre grupos, verificou-se que os animais que receberam sangue fresco e armazenado por 15 dias apresentaram nas primeiras 24h pós-transfusionais maior número de hemácias do que os animais que receberam sangue armazenado por 35 dias (Tab. 4). Sousa (2012) ao avaliar transfusão homóloga de sangue fresco ou conservado em ovinos também encontrou maior sobrevivência das hemácias frescas em relação às hemácias armazenadas. Isso mostra que quanto menor o tempo de armazenamento das hemácias, menos elas serão expostas às lesões de armazenamento e, consequentemente, maior será a sua viabilidade pós-transfusional, a qual é definida por Hunt e Moore (1990) como sendo a porcentagem de células que permanecem na circulação do receptor 24 horas após a transfusão, sendo que as que sobrevivem apresentam uma vida útil normal. A meia vida curta das hemácias transfundidas (3,4 ± 3,3 dias) (Fitzsimmons *et al*., 1967) se deve à rápida e intensa destruição destas pelo sistema reticuloendotelial do pulmão e baço mesmo que haja compatibilidade sanguínea. Sendo assim, a transfusão sanguínea nessa espécie resulta em uma melhoria em curto prazo da capacidade de transporte de oxigênio do sangue (Hunt e Moore, 1990).

Argôlo (2014) ao induzir anemia aguda em caprinos pela retirada de aproximadamente 30% de sangue mostrou que a recuperação do número de hemácias e volume globular ocorreu 24 dias após a indução. No presente estudo, observou-se que o retorno do número de hemácias a valores basais ocorreu após 6 horas da transfusão nos animais que receberam sangue fresco; 32 dias da transfusão nos animais que receberam sangue armazenado por 35 dias, enquanto que os animais que receberam sangue armazenado por 15 dias não foi observado esse retorno (Tab. 4).

Na comparação entre grupos verificou-se que os animais que receberam sangue fresco apresentaram maior VG e maior concentração de hemoglobina do T1 ao T96 em relação aos que receberam sangue armazenado (Tab. 4). Na comparação entre tempos, considerando as primeiras 6 horas pós-transfusão, os animais do G0 apresentaram aumento de 4,33% do VG em relação ao TC1, enquanto os do G15 e G35 apresentaram aumento não significativo de 1,83% e 1,34% respectivamente (Tab. 4). Sousa (2012) ao avaliar ovinos submetidos à perda aguda de 40% do volume sanguíneo e submetidos, posteriormente à transfusão sanguínea homóloga observou que após 6 horas de transfusão, os animais do G0 apresentaram aumento significativo de 10,52% do VG em relação ao TC1, enquanto os do G15 e G35 apresentaram aumento de 5,5% e 8,8% respectivamente. Com isso, percebe-se que apesar dos caprinos terem respondido com menor intensidade ao aumento do VG após a transfusão, em ambos os estudos o sangue fresco foi capaz de provocar um aumento maior e mais rápido do VG em relação ao sangue armazenado. Para Hunt e Moore (1990) a transfusão de 10-20mL/Kg de sangue é necessária para resultar em um aumento sensível do VG, corroborando com o aumento do VG visualizado no G0 desse estudo.

Tabela 4. Valores médios (X) e desvios padrão (S) do volume globular, concentração de hemoglobina e número de hemácias de caprinos submetidos à perda sanguínea e, posteriormente, à transfusão homóloga de sangue total fresco (G0), armazenado em bolsas CPDA-1 por 15 dias (G15) ou 35 dias (G35), nos tempos analisados.

Tempos	**Volume globular (%)**			**Hemoglobina (g/dL)**			**Número de hemácias ($x10^6$/µL de sangue)**		
	G0 (X±S)	**G15 (X±S)**	**G35 (X±S)**	**G0 (X±S)**	**G15 (X±S)**	**G35 (X±S)**	**G0 (X±S)**	**G15 (X±S)**	**G35 (X±S)**
TC0	31,17 ± 1,60	28,67 ± 1,51	29,33 ± 2,88	10,40 ± 0,46^{A}	8,95 ± 0,83^{B}	10,70 ± 1,37^{A}	19,73 ± 2,98^{AB}	21,08 ±1,81^{A}	18,22 ± 1,96^{B}
TC1	22,50 ± 1,87$^{b¥}$	22,00 ± 5,29$^{¥}$	19,33 ± 2,25$^{b¥}$	7,87 ± 0,59$^{Ab¥}$	5,98 ± 0,72$^{Bb¥}$	6,18 ± 0,91$^{Bb¥}$	13,60 ± 2,11$^{b¥}$	13,91± 1,47$^{¥}$	13,19 ± 1,58$^{b¥}$
T1	25,33 ± 1,37$^{Ab¥}$	20,00 ± 1,79$^{B¥}$	19,83 ± 1,83$^{Bb¥}$	8,93 ± 0,43$^{Ab¥}$	6,77 ± 0,68$^{Bb¥}$	6,77 ± 0,84$^{Bb¥}$	16,22 ± 1,62$^{Ab¥}$	14,80± 0,99$^{AB¥}$	13,26 ± 0,83$^{Bb¥}$
T6	26,83 ± 1,72$^{Aa¥}$	23,83 ± 3,76$^{AB¥}$	20,67 ± 2,34$^{Bb¥}$	9,48 ± 0,83^{Aa}	7,73 ± 0,79^{Ba}	7,05 ± 0,87$^{Bb¥}$	17,63 ± 1,62^{Aa}	16,79± 0,26$^{A¥}$	14,35 ± 1,17$^{Bb¥}$
T12	25,50 ± 1,87$^{Ab¥}$	21,33 ± 1,03$^{B¥}$	21,00 ± 2,76$^{Bb¥}$	9,28 ± 0,37^{Aa}	7,72 ± 0,58^{Ba}	7,05 ± 1,11$^{Bb¥}$	17,50 ± 1,62^{Aa}	16,83± 2,03$^{AB¥}$	14,58± 1,13$^{Bb¥}$
T24	26,33 ± 1,75$^{Aa¥}$	20,50 ± 0,84$^{B¥}$	20,00 ± 2,76$^{Bb¥}$	9,45 ± 0,77^{Aa}	6,97 ± 0,58$^{Bb¥}$	6,88 ± 1,00$^{Bb¥}$	17,42 ± 2,64^{Aa}	15,76± 0,99$^{AB¥}$	14,23 ± 1,78$^{Bb¥}$
T96	24,50 ± 2,17$^{Ab¥}$	18,83 ± 2,14$^{B¥}$	19,50 ± 3,89 $^{Bb¥}$	8,72 ± 1,17$^{Ab¥}$	6,47 ± 0,55$^{Bb¥}$	6,67 ± 1,61$^{Bb¥}$	15,49 ± 1,67$^{b¥}$	14,39± 0,61$^{¥}$	13,15 ± 2,73$^{b¥}$
T8d	23,00 ± 2,53$^{Ab¥}$	19,33 ± 3,44$^{B¥}$	22,17 ± 2,14 $^{ABb¥}$	7,50 ± 0,95$^{Ab¥}$	6,20 ± 1,18$^{Bb¥}$	6,45 ± 0,74$^{ABb¥}$	14,39 ± 1,73$^{b¥}$	14,04± 2,73$^{¥}$	13,93 ± 0,51$^{b¥}$
T16d	24,83 ± 3,66$^{Ab¥}$	20,33 ± 4,08$^{B¥}$	23,50 ± 1,76 $^{ABa¥}$	8,22 ± 1,54$^{Ab¥}$	6,52 ± 1,45$^{Bb¥}$	7,20 ± 0,51$^{ABb¥}$	16,18 ± 3,04$^{b¥}$	14,17± 1,26$^{¥}$	14,50 ± 1,61$^{b¥}$
T32d	27,50 ± 2,07^{a}	24,67 ± 3,39$^{¥}$	28,17 ± 1,47^{a}	8,45 ± 0,59$^{b¥}$	8,07 ± 1,08^{a}	9,18 ± 0,63$^{a¥}$	17,27± 1,63^{ABa}	16,97± 1,22$^{B¥}$	19,46 ± 1,68^{Aa}

Letras maiúsculas distintas na mesma linha indicam diferença significativa entre os grupos no mesmo tempo pelo teste de Tukey ($p<0,05$). Letras minúsculas distintas na mesma coluna indicam diferença significativa entre o momento TC1 (imediatamente antes da transfusão de sangue) e os demais momentos de avaliação teste de Bonferroni ($p<0,05$). O símbolo ¥ na mesma coluna indica diferença significativa entre o momento TC0 (antes da perda de sangue) e os demais momentos de avaliação pelo teste de Bonferroni ($p<0,05$).

O número de leucócitos permaneceu dentro dos valores de referência para a espécie (4,0 x 10^3 leucócitos/µL de sangue – 13,0 x 10^3 leucócitos/µL de sangue) (PUGH, 2004) e a contagem diferencial não apresentou alterações relevantes (dados não mostrados).

A avaliação da coagulação revelou maior TP nos animais que receberam sangue armazenado por 15 dias nos momentos TC1, T1, T12 e T8d e nos animais que receberam sangue armazenado por 35 dias nos momentos T12, T16d e T32d. O TTPA não diferiu entre os grupos estudados (dados não mostrados). Esses resultados sugerem que o sangue armazenado provocou alterações na coagulação, aumentando o TP nos animais que receberam sangue conservado discordando dos resultados encontrados por Sousa (2012), onde não houve diferença de TP e TTPA entre os grupos de estudo. Apesar dessas alterações, os valores de TP e TTPA obtidos nesse estudo ficaram dentro dos valores de referência para a espécie (25,4±5,69 segundos e 39,5±8,92 segundos, respectivamente) (MEDEIROS; SOTO-BLANCO, 2009).

2.4 CONCLUSÕES

A transfusão de sangue homólogo total fresco foi mais eficiente em repor a volemia, número de hemácias e concentração de hemoglobina do que a transfusão de sangue total armazenado.

Os três grupos apresentaram reações transfusionais, demonstrando que uma única transfusão de sangue fresco ou armazenado pode causar reações transfusionais inflamatórias e febris não hemolíticas em caprinos.

Apesar das alterações observadas, a transfusão de sangue homólogo fresco ou conservado por até 35 dias mostrou-se segura para ser utilizada na prática clínica na espécie caprina.

REFERÊNCIAS

ARGÔLO, E. P. Respostas à perda sanguínea aguda em caprinos. 2014. 61f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2014.

BIRGEL, E. H. Hematologia clínica veterinária. In: BIRGEL, E. H.; BENESI, F. J. (Eds.). Patologia clínica veterinária. 2. ed. São Paulo: Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, 1982. 260 p.

BRACKER, K. E.; DRELLICH, S. Transfusion Reactions. Compendium Vet, p. 500-512, 2005.

BRUBAKER, D. B. Clinical significance of white cell antibodies in febrile nonhemolytic transfusion reactions. Transfusion, v. 30, n. 8, p. 733–737, 1990.

FITZSIMMONS, W. M.; SANSOM, B. F.; SELLWOOD, S. A.; MATTHEWS, P. R. J. Blood transfusion and red cell survival in the goat. British Veterinary Journal, v. 123, n. 5, p. 192-196, 1967.

GARCIA-NAVARRO, C. E. K. Manual de Hematologia Veterinária. 2 ed. São Paulo: Livraria Varela, 2005.

HUNT, E.; MOORE, J. S. Use of blood and blood products. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice , v.6, n.1, p.133-147, 1990.

KERR, M. G. Exames laboratoriais em medicina veterinária: Bioquímica Clínica e Hematologia. 2 ed. São Paulo: Roca, p. 339-359, 2003.

KLABUNDE, R. E. Cardiovascular Physiology Concepts. 2 ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2011.

LACERDA, L. Transfusão sanguínea em veterinária: desafios a vencer. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; SANTOS, A. P. (Eds.). Anais do II Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. p. 62-81, 2005.

LANEVSCHI, A.; WARDROP, K.J.N. Principles of transfusion medicine in small animals. Canadian Veterinary Journal, v. 42, 2001.

LIEBICH, H.-G.; FORSTENPOINTNER, G.; PÉREZ, W.; KÖNIG, H. E. Introdução e Anatomia Geral. In: KÖNIG, H. E.; LIEBICH, H.-G. (Eds). Anatomia dos animais domésticos: texto e atlas colorido. Tradução de Regis Pizzato. 6 ed. São Paulo: Artmed, 2016. 824p.

MALOUIN, A.; SILVERSTEIN, D. Shock. In: BONAGURA, J. D.; TWEDT, D. C. (Eds.). KIRK'S Current Veterinary Therapy XIV. 14 ed. St. Louis Missouri: Saunders, Elsevier, pp. 2-8, 2009. 1388p.

MBASSA, G. K.; POULSEN, J. S. D. Comparison between a modified haemocytometric technique and electronic counters in goat blood cell counting. Journal of Veterinary Medicine Series A, v. 38, p. 350 – 356, 1991.

MCDEVITT, R. I.; RUAUX, C.G.; BALTZER, W. I. Influence of transfusion technique on survival of autologous red blood cells in the dog. Journal of Veterinary Emergency and Critical Care, v. 21, n. 3, p. 209–216, 2011.

MEDEIROS, L. P. M.; SOTO-BLANCO, B. Tempo de protrombina e de tromboplastina parcial ativada em caprinos criados extensivamente no Estado do Rio Grande do Norte. Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal. v. 10, n.1, 2009.

MUDGE, M. C. Blood Transfusion in Large Animals. In: WEISS, D. J.; WARDROP, K. J. (Eds). Schalm's Veterinary Hematology. 6 ed. Ames, Iowa (USA): Wiley-Blackwell, pp. 757–762. 2010. 1232p.

PUGH, D. G. Clínica de ovinos e caprinos. São Paulo: Roca, 2004. 528p.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. Clínica Veterinária: Um Tratado de Doenças dos Bovinos, Ovinos, Suínos, Caprinos e Equinos. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 3-35, 2012. 1737p.

REICHMANN, P.; DEARO, A. C. de O. Transfusão de sangue e seus derivados em grandes animais. Semina Ciências Agrárias, v. 22, n.2, p. 223-228, 2001.

SHARMA, S.; SHARMA, P.; TYLER, L.N. Transfusion of Blood and Blood Products: Indications and Complications. American Family Physician, v. 83, n. 6, 2011.

SMITH, M. C.; SHERMAN, D.M. Blood, lymph and immune systems. In: SMITH, M. C.; SHERMAN, D.M. (Eds.). Goat medicine. 2 ed. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell, 2009. 871p.

SOUSA, R. S. Avaliação da transfusão sanguínea homóloga em ovinos. 2012. 168f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). Área de concentração: Sanidade Animal - Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2012.

SOUSA, R. S.; BARRÊTO JÚNIOR, R. A.; SOUSA, I. K. F. et al. Evaluation of hematologic, blood gas, and select biochemical variables in ovine whole blood stored in CPDA-1 bags. Veterinary Clinical Pathology, v. 42, n. 1, p. 27-30, 2013.

SOUSA, R. S.; BARROS, I. O.; TAVARES, M. D. et al. Lesões de armazenamento durante a conservação de sangue nas diferentes espécies: uma revisão. Acta Veterinaria Brasilica, v. 6, n. 2, p.68-79, 2012a.

SOUSA, R. S.; CHAVES, D. F.; BARRÊTO JÚNIOR, R. A. et al. Clinical, haematological and biochemical responses of sheep undergoing autologous blood transfusion. BMC Veterinary Research, v. 8, n.61, p.1-7, 2012b.

SOUSA, R. S.; MINERVINO, A. H. H.; ARAÚJO, C. A. S. C. et al. Clinical Response and Transfusion Reactions of Sheep Subjected to Single Homologous Blood Transfusion. The Scientific World Journal, v. 2014, p. 1-7, 2014.

TAVARES, M. D. Avaliação hematológica, bioquímica e hemogasométrica de sangue caprino armazenado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M. 2013. 73f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2013.

UMARU, M. A.; BELLO, A.; HASSAN, L. U.; ADAMU. U. Preliminary Clinical Observations Following Blood Transfusion in the Caprine. Animal Production Research Advances, v. 5, n. 3, 2009.

WARDROP, K. J.; YOUNG, J.; WILSON, E. An in vitro evaluation of storage media for the preservation of canine packed red blood cells. Veterinary Clinical Pathology, v. 23, n. 3, p. 83-88, 1994.

3 CAPÍTULO 3 – RESPOSTAS BIOQUÍMICA, HEMOGASOMÉTRICA, ESTRESSE OXIDATIVO E PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA DE CAPRINOS TRANSFUNDIDOS COM SANGUE HOMÓLOGO TOTAL FRESCO OU ARMAZENADO

Biochemical responses, blood gas, oxidative stress and lipid peroxidation of goats transfused with whole fresh or stored homologous blood

Artigo submetido à Revista Pesquisa Veterinária Brasileira – Quallis A2.

Respostas bioquímica, hemogasométrica, estresse oxidativo e peroxidação lipídica de caprinos transfundidos com sangue homólogo total fresco ou armazenado

Nayanna. B. da S. Fonseca[1*], Jucélio S. Gameleira[1], Jerson M. Cavalcante[1], Francisco L. C. Oliveira[2], Clara S. Mori[2], Rejane S. Sousa[2], Antônio H.H. Minervino[3], Raimundo A. Barrêto-Júnior[1]

ABSTRACT.- Fonseca, N.B.S., Gameleira, J.S., Cavalcante, J.M., Oliveira, F.L.C., Mori, C.S., Sousa R.S, Minervino, A.H.H., Barrêto-Júnior, R.A. [**Biochemical responses, blood gas, oxidative stress and lipid peroxidation of goats transfused with whole fresh or stored homologous blood**] Respostas bioquímicas, hemogasométricas, estresse oxidativo e peroxidação lipídica de caprinos transfundidos com sangue homólogo total fresco ou armazenado. *Pesquisa Veterinária Brasileira 00(0):00-00*. Departamento de Ciências Animais, Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Av. Francisco Mota, 572 - Bairro Costa e Silva, Mossoró, RN, CEP: 59.625-900, Brasil. E-mail: nayanna_brunna@yahoo.com.br

Blood transfusion is an important therapy for animals, although in the blood in the literature there are few studies on hemotherapy in goats. This work aimed to evaluate the biochemical, hemogasometric, oxidative stress and lipid peroxidation of goats submitted to homologous transfusion of fresh whole blood or stored for 15 and 35 days. Eighteen adult male goats were submitted to a single phlebotomy to remove 30% of the blood volume and transfused with 20mL / kg of whole blood stored in CPDA-1 bags according to the experimental group, being: G0 composed of animals Who received fresh blood; G15 and G35 animals that received blood stored in CPDA-1 pockets for 15 and 35 days, respectively. For the biochemical evaluation, hemogasometric, oxidative stress and lipid peroxidation, blood samples were collected at the following moments: before the induction of anemia (TC0); 6 hours after phlebotomy and before transfusion (CT scan); 1, 6, 12, 24 and 96 hours after transfusion (T1, T6, T12, T24 and T96, respectively); 8, 16 and 32 days after transfusion (T8d, T16d and T32d, respectively). Samples of blood were also withdrawn from the pockets, prior to transfusion, for the same analyzes. Statistical analyzes were performed in the statistical program GRAPHPAD PRISM 5.0, adopting a significance level of 5%. The pockets of blood stored for 15 and 35 days showed more biochemical changes, hemogasometric, oxidative stress and lipid peroxidation than fresh blood bags. As for the biochemical analysis, after the transfusion it was observed an increase of the proteins in the 3 groups; Transient increase of serum glucose in G0 and G35; Elevation of total bilirubin, direct bilirubin, and urea in G15 and G35; In addition, there was elevation of creatine kinase in the 3 groups. The changes observed in the hemogasometric analysis had no clinical significance, as they were within the reference values for the species. The animals receiving stored blood presented disorder in their

antioxidant system demonstrated by the alteration of the SOD activity. In the analysis of lipid peroxidation there was no difference between the groups for the concentration of malondialdehyde. Thus, it can be concluded that transfusion of whole fresh blood or stored in goats did not compromise the blood gases, lipid peroxidation and liver and renal functions of the transfused animals. In addition, it proved to be efficient in replacing, among other components, the total proteins. Thus, the transfusion, as performed in this study, proved to be safe to be used in the clinical practice of this species.

INDEX-TERMS: Homologous blood transfusion whole fresh or stored, goats, biochemistry, hemogasometry, oxidative stress, lipid peroxidation.

RESUMO.- A transfusão de sangue é uma importante terapia para animais, apesar disto na sanguínea na literatura há poucos estudos sobre hemoterapia em caprinos. Este trabalho teve como objetivo avaliar as respostas bioquímica, hemogasométrica, estresse oxidativo e peroxidação lipídica de caprinos submetido à transfusão homóloga de sangue total fresco ou armazenado por 15 e 35 dias. Foram utilizados 18 caprinos adultos, machos, submetidos a uma única flebotomia para retirada de 30% do volume sanguíneo e transfundidos com 20mL/Kg de sangue total armazenado em bolsas CPDA-1 de acordo com o grupo experimental, sendo: o G0 composto por animais que receberam sangue fresco; G15 e G35 animais que receberam sangue armazenado em bolsas CPDA-1 por 15 e 35 dias, respectivamente. Para a avaliação bioquímica, hemogasométrica, estresse oxidativo e peroxidação lipídica foram coletadas amostras de sangue nos seguintes momentos: antes da indução da anemia (TC0); 6 horas após a flebotomia e antes de transfusão (TC1); 1, 6, 12, 24 e 96 horas após a transfusão (T1, T6, T12, T24 e T96, respectivamente); 8, 16 e 32 dias após a transfusão (T8d, T16d e T32d, respectivamente). Amostras de sangue também foram retiradas das bolsas, antes da transfusão, para realização das mesmas análises. As análises estatísticas foram realizadas no programa estatístico GRAPHPAD PRISM 5.0, adotando-se nível de significância de 5 %. As bolsas de sangue armazenadas por 15 e 35 dias apresentaram mais alterações bioquímicas, hemogasométricas , estresse oxidativo e peroxidação lipídica do que as bolsas de sangue fresco. Quanto à análise bioquímica, após a transfusão observou-se aumento das proteínas nos 3 grupos; aumento transitório da glicose sérica no G0 e G35; elevação da bilirrubina total, bilirrubina direta e uréia no G15 e G35; além disso, houve elevação da creatina quinase nos 3 grupos. As alterações observadas na análise hemogasométrica não tiveram significado clínico, pois estavam dentro dos valores de

referência para a espécie. Os animais que receberam sangue armazenado apresentaram desordem no seu sistema antioxidante demonstrada pela alteração da atividade da SOD. Na análise da peroxidação lipídica não houve diferença entre os grupos para a concentração de malondialdéido. Sendo assim, pode-se concluir que a transfusão de sangue homólogo total fresco ou armazenado em caprinos não comprometeu a gasometria, peroxidação lipídica e funções hepática e renal dos animais transfundidos. Além disso, mostrou-se eficiente em repor entre outros componentes, as proteínas totais. Dessa forma, a transfusão, conforme realizada neste estudo, mostrou-se segura para ser utilizada na prática clínica desta espécie.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Transfusão homóloga de sangue total fresco ou conservado, caprinos, bioquímica, hemogasometria, estresse oxidativo, peroxidação lipídica.

3.1 INTRODUÇÃO

A transfusão sanguínea é uma antiga prática terapêutica que ao longo do tempo vem tendo seu uso cada vez mais difundido, principalmente, devido a importantes descobertas tecnológicas, como o uso dos anticoagulantes durante a coleta e análise de diferenças entre indivíduos para a escolha do doador (Lacerda 2005).

Na medicina veterinária, a transfusão é bastante utilizada e para seu sucesso é necessário uma série de cuidados com a escolha do doador, normas adequadas de coleta, processamento e armazenamento das bolsas, bem como estabelecimento de parâmetros de controle de qualidade que indiquem a viabilidade do sangue a ser utilizado (Lacerda 2005). As bolsas de sangue utilizadas na medicina veterinária são as mesmas utilizadas em humanos, sendo que em caprinos é preferível o uso das bolsas CPDA-1 (Tavares 2013).

A transfusão de sangue total ou de um dos seus componentes poderá ser feita sob a forma de sangue fresco ou congelado, respectivamente (Reichmann & Dearo 2001, Lacerda 2005). A transfusão de sangue total ainda é a mais utilizada na medicina veterinária (Lacerda, 2005), sendo que sua indicação ou de um dos seus componentes ocorre quando é necessário o restabelecimento da capacidade de transporte de oxigênio pelo sangue; em distúrbios na hemostasia; na transferência de imunidade passiva; na hipoproteinemia ou hipovolemia (Reichmann & Dearo 2001). Em caprinos, a necessidade de transfusão ocorre normalmente devido a anemia decorrente da presença de endo e ectoparasitas ou deficiências nutricionais. No entanto, outras causas como traumas e intervenções cirúrgicas são observadas na rotina de atendimento médico veterinário (Pugh, 2004).

Na medicina humana, há vários estudos sobre a padronização de parâmetros indicativos de controle de qualidade, com o intuito de evitar lesões de armazenamento (Tomczak et al., 2010), porém, na veterinária esses critérios ainda não estão bem estabelecidos. Estudos em diferentes espécies animais têm demonstrado que o tempo de armazenamento causa alterações em variáveis hematológicas, bioquímicas, hemogasométricas, peroxidação lipídica e em enzimas antioxidantes (Niinistö et al. 2008, Barros 2011, Bertoletti 2011, Costa Júnior et al. 2008, Sousa et al. 2012a, Sousa et al. 2013, Tavares 2013). Após a transfusão, algumas dessas alterações podem ser refletidas nas repostas do animal à transfusão conforme observado por Sousa (2012) e Sousa et al. (2012b) ao analisar a transfusão sanguínea homóloga e autóloga em ovinos, respectivamente.

Embora, a transfusão sanguínea seja uma prática comum na clínica de pequenos ruminantes, esta é feita de forma empírica, pois poucas informações são encontradas sobre os reais benefícios ou transtornos gerados por essa medida terapêutica em caprinos. Quando se considera a realização desse procedimento utilizando sangue armazenado, esses dados inexistem na literatura, sendo necessário estudar e avaliar a viabilidade dessa prática nessa espécie. Dessa forma, o presente estudo teve por objetivo avaliar as respostas bioquímica, hemogasométrica, estresse oxidativo e a peroxidação lipídica de caprinos submetidos à transfusão homóloga de sangue fresco ou armazenado por 15 e 35 dias.

3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

Local do estudo: O estudo foi realizado no Laboratório de Medicina Interna Veterinária (LABMIV) da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), em Mossoró-RN, cujas coordenadas geográficas são 5º11" de latitude sul e 37º20" de longitude oeste. Esse estudo respeitou os padrões éticos e cuidados com os animais, sendo aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) dessa instituição, sob o número de processo 23091.005234/2013-08 (Parecer nº 28/2013).

Animais: Foram utilizados 18 caprinos machos, adultos, SRD, peso médio 21,75 ± 3,48 Kg, os quais foram considerados saudáveis após exame físico, hemograma e exame parasitológico de fezes estarem dentro dos parâmetros normais para a espécie. Eles foram mantidos em baias coletivas e passaram por um período de adaptação de 30 dias. Durante este período, eles receberam uma aplicação de endectocida com base em ivermectina (Ivermectan®, UCBVET, São Paulo/SP, Brasil), anti helmíntico (Biozen®, Biofarm, São Paulo/SP, Brasil) e doses de coccidiostáticos (Trissulfin®, Ouro Fino, São Paulo/SP, Brasil).

Após este período, amostras de sangue foram coletadas para realização do hemograma. Os animais com volume globular normal foram utilizados neste estudo. Nenhum dos animais havia sido submetido previamente a qualquer tipo de transfusão de sangue.

A dieta dos animais foi composta por 75% de matéria seca (feno de capim Canarana e capim Elefante) e 25% de concentrado usando ração comercial (Rações Agromix®, Maracanaú, CE, Brasil). Os caprinos também receberam suplementação mineral e vitamínica todos os dias (Caprinofós®, Tortuga Companhia Zootécnica Agrária, Mairinque/SP, Brasil) (15 g / animal) e eles tiveram livre acesso à água.

Com o objetivo de reduzir custos e maximizar a logística experimental, os dezoito animais utilizados para a transfusão de sangue também serviram como doadores, assim, no momento da indução da anemia, o sangue foi coletado em bolsas evitando-se desperdício desse importante componente corpóreo. Além disso, utilizaram-se mais seis animais externos ao experimento apenas como doadores, os quais foram da mesma forma, examinados por meio de exame físico e hemograma para verificar se estavam saudáveis e aptos para doação de sangue.

Coleta e armazenamento do sangue: Inicialmente, a tricotomia e assepsia da região jugular foram realizadas para a coleta de sangue. O animal foi, posteriormente, posicionado em decúbito lateral para a punção venosa jugular, e a agulha colocada na direção caudocranial. O sangue foi armazenado em bolsas plásticas estéreis do tipo CPDA-1 (Linha CompoFlex®, Fresenius Kabi, Barueri/SP, Brasil), contendo solução anticoagulante composta por citrato, fosfato, dextrose e adenina (CPDA-1). As bolsas foram mantidas sob refrigeração a uma temperatura entre 2º e 6ºC, durante 15 e 35 dias, dependendo do grupo. Durante o período de armazenamento, as bolsas foram homogeneizadas diariamente, através do Homogeneizador para bolsa sanguínea (BHB_800, Benfer, São Paulo/SP, Brasil), para haver a mistura de todo o sangue com a solução conservante.

Indução da anemia e transfusão sanguínea: A anemia aguda foi induzida em todos os 18 caprinos através da retirada de 30% do seu volume sanguíneo, medido de acordo com o cálculo do volume total de sangue dos animais, que segundo Liebich et al. (2016) corresponde a 8% do seu peso corporal. A porcentagem de 30% para indução de anemia aguda foi baseada em estudos prévios ainda não publicados com perda aguda de sangue em caprinos. Seis horas após a indução de anemia, o sangue total colhido em bolsas CPDA-1 foi transfundido para os animais de acordo com o grupo experimental: G0 (grupo controle) recebeu transfusão de sangue fresco (coletado com até 6 horas antes da transfusão); G15 (grupo 15 dias) recebeu transfusão de sangue armazenado durante 15 dias; e G35 (grupo 35 dias) recebeu transfusão

de sangue armazenado durante 35 dias. Cada grupo experimental foi composto por 6 animais apresentando pesos corporais semelhantes.

Antes da transfusão as bolsas foram retiradas da geladeira e deixadas à temperatura ambiente por cerca de 30 minutos. Nesse momento, amostras de sangue foram retiradas das bolsas para realização da análise microbiológica, bioquímica, hemogasométrica, estresse oxidativo e peroxidação lipídica. Para hemocultura utilizou-se o Sistema Hemobac Trifásico Pediátrico (Probac®, São Paulo/SP, Brasil) composto por um laminocultivo de duas faces contendo ágar-chocolate, ágar Sabouraud e ágar MacConkey. Posteriormente, a bolsa foi conectada a um equipo de transfusão (Sangodrop® B LLM, Fresenius Kabi, Barueri/SP, Brasil) e este a um cateter para administração do sangue, e o sangue foi transfundido na veia jugular. Cada animal recebeu 20 mL de sangue total por kg de peso corporal durante a transfusão, volume considerado seguro para ser administrado (Hunt & Moore 1990).

Nos primeiros 15 minutos da transfusão, o sangue foi infundido mais lentamente (0,1 mL de sangue/kg) para verificação de possíveis reações adversas, posteriormente, a velocidade foi aumentada para 20 mL de sangue por Kg de peso corpóreo por hora (Reichmann & Dearo 2001). Durante a realização da transfusão, a temperatura do ambiente variou de 22 a 28ºC.

Os parâmetros bioquímicos, estresse oxidativo e peroxidação lipídica foram avaliados, a partir da coleta de amostras de sangue, nos seguintes momentos: antes da indução da anemia (TC0); 6 horas após indução da anemia e antes de transfusão (TC1); 1, 6, 12, 24 e 96 horas após a transfusão (T1, T6, T12, T24 e T96, respectivamente); 8, 16 e 32 dias após a transfusão (T8d, T16d e T32d, respectivamente). Os parâmetros hemogasométricos foram avaliados do TC0 ao T96.

Análise bioquímica: Para avaliação bioquímica foram coletadas 2 amostras de sangue total em tubos de 8,5 mL sem anticoagulante, os quais foram centrifugados a 1500 g por 15 minutos para obtenção do soro. Um dos tubos de coleta, utilizado para obtenção de soro foi envolvido com papel alumínio, para evitar o contato da luz ambiente com o soro, este foi utilizado para determinação da concentração de bilirrubinas. Além disso, coletaram-se amostras de sangue total em tubos com fluoreto de sódio para avaliar as concentrações de glicose e lactato.

A avaliação bioquímica foi realizada a partir da determinação das concentrações de proteínas totais (PT), albumina, ureia, creatinina, bilirrubina total (BT), bilirrubina direta (BD) e atividade das enzimas lactato desidrogenase (LDH), aspartato aminotransferase (AST), gama glutamiltransferase (GGT) e creatina quinase (CK) em amostras de soro. A

concentração de glicose e lactato foi determinada em amostras de plasma. Todas as avaliações bioquímicas foram realizadas em analisador bioquímico automático (RX Daytona, Randox®, Antrim, UK) usando kits comerciais da mesma marca. As concentrações dos eletrólitos sódio e potássio foram determinados em soro, utilizando fotômetro de chama (FC-130, Celm, São Paulo, Brasil). A concentração de bilirrubina indireta (BI) foi obtida através do cálculo da diferença entre BT e BD.

Análise hemogasométrica: A avaliação hemogasométrica foi baseada na análise do potencial hidrogeniônico (pH), pressão parcial de oxigênio (PO2), pressão parcial de dióxido de carbono (PCO2), saturação de oxigênio (SO2), bicarbonato (HCO3-), excesso de base (BE) e concentração total de dióxido de carbono (TCO2). Para essa avaliação, foram utilizadas amostras de sangue total venoso, coletada em seringas heparinizadas e analisado em hemogasômetro portátil (i-STAT®1, Abbott Point of Care Inc, Illinois, EUA) com o uso de cartuchos i-STAT® CG8+ (Abbott Laboratories, Illinois, EUA). Cada determinação foi corrigida pela temperatura retal do animal.

Análise do estresse oxidativo e peroxidação lipídica: O estresse oxidativo foi avaliado a partir da atividade da superóxido dismutase (SOD) e glutationa Peroxidade (GPx). As amostras de sangue total para determinação de SOD e GPx foram coletadas à vácuo em dois tubos de 8,5 mL contendo heparina lítica como anticoagulante. Posteriormente, foram centrifugadas a 2500 rpm por 10 minutos em centrífuga, sendo retirado o plasma e o buffycoat. Posteriormente as hemácias foram lavadas três vezes com solução de salina (NaCl 0,9%) e a papa de hemácia obtida foi acondicionada em microtubos âmbar e congelada em freezer a -80°C para posterior análise de SOD e GPx. As concentrações de SOD e GPx foi determinada em analisador bioquímico automático (RX Daytona, Randox®, Antrim, UK) utilizando-se kits comerciais (Ransod, Ransel, Randox®, Antrim, UK).

A peroxidação lipídica foi avaliada através da determinação do Malondialdeído (MDA) em amostras de soro, usando método descrito por Esterbauer & Cheeseman (1990).

Análise estatística: As análises estatísticas foram processadas com auxílio do programa estatístico GRAPHPAD PRISM 5.0. O nível de significância adotado foi de 5 %. Para verificar a distribuição dos dados obtidos nas diversas variáveis estudadas os mesmos foram submetidos ao teste de Kolmogorov e Smirvov. A análise estatística para comparação entre as bolsas dos três grupos foi realizada através de análise de variância seguida do teste de Tukey para comparação de médias. A avaliação dos animais nos diferentes momentos foi realizada através de análise de variância de duas vias com medidas repetidas no tempo (Two-way repeted mensure ANOVA), seguida de teste de comparação de médias de Tukey para

comparação entre os grupos nos diferentes tempos; e Bonferroni para comparação entre o TC0 e o TC1 e os tempos subsequentes.

3.3 RESULTADOS

Análise das bolsas: Na análise bioquímica das bolsas não foi observada diferença entre as bolsas B0, B15 e B35 para a concentração de proteínas totais, albumina e sódio. Porém, as bolsas diferiram quanto às concentrações de potássio, glicose, lactato e LDH, onde as bolsas com sangue armazenado (B15 e B35) apresentaram maior (P<0,0001) concentração de potássio e LDH quando comparadas as bolsas de sangue fresco. Além disso, observou-se também maior (P<0,05) concentração de lactato no sangue armazenado por 35 dias e menor (P<0,05) teor de glicose no sangue armazenado por 15 dias (Tabela 1).

Não foi observada diferença estatística entre as bolsas B0, B15 e B35 para o TCO2, HCO3-e BE. Porém, as bolsas diferiram quanto ao pH, pO2, pCO2 e SO2, onde o sangue armazenado por 15 e 35 dias apresentou menores (P<0,05) valores de pH do que o sangue fresco; o sangue armazenado por 15 dias apresentou maior (P<0,01) pCO2; e o sangue armazenado por 35 dias apresentou maior (P<0,0001) pO2 e SO2 do que o sangue fresco e o armazenado por 15 dias (Tabela 1).

A avaliação do estresse oxidativo das bolsas mostrou que a atividade da SOD foi menor (P<0,01) no sangue armazenado por 35 dias, enquanto que não se observou diferença na atividade da GPX para o sangue fresco ou armazenado (Tabela 1).

A avaliação da peroxidação lipídica das bolsas mostrou maiores (P<0,01) concentrações de Malondialdeído no sangue armazenado por 35 dias quando comparado ao sangue fresco e armazenado por 15 dias (Tabela 1).

Na análise microbiológica das bolsas, todas as culturas das amostras realizadas durante o período experimental foram negativas para qualquer crescimento bacteriano.

Análise bioquímica: Não foi observada diferença entre grupos para a concentração de proteínas totais, bilirrubina indireta, glicose, lactato, potássio e para as enzimas LDH, AST, GGT e CK.

Asproteínas totais reduziram (P<0,0001) após a indução da anemia no TC1 em todos os grupos. Após a transfusão houve aumento (P<0,0001) da PT a partir do T1 no G0 e a partir do T6 no G15 e G35 (Tabela 2).

Com relação à concentração de albumina houve diferença (P<0,01) entre os grupos, onde o G0 apresentou maior teor de albumina do que os animais do G15 dos momentos T6 ao

T96; e maior do que o G15 e G35 no T16d. Na comparação entre tempos, após a indução da anemia, houve redução (P<0,0001) da concentração de albumina sérica no TC1 em todos os grupos. Após a transfusão houve aumento da albumina no T1 e T16d do G0 e T32d do G15 (Tabela 2).

A concentração de bilirrubina total foi maior (P<0,05) do TC1 ao T96 nos grupos G15 e G35. Entre tempos, após a indução da anemia, a concentração de bilirrubina total reduziu (P<0,0001) no TC1 e do T24 ao T32d do grupo G15 e do TC1 ao T32d do G35. Porém, após a transfusão essa redução foi observada apenas no T32d desses grupos (Tabela 2).

A concentração de bilirrubina direta foi maior (P<0,01) do TC1 ao T16d nos grupos G15 e G35. Entre tempos, após a indução da anemia, a concentração de bilirrubina direta reduziu (P<0,0001) no TC1, T1, T24, T8d, T16d e T32d do G15 e no T1, T96, T16d e T32d do G35. Enquanto que após a transfusão a redução foi observada apenas no T32d do G15 (Tabela 2).

A concentração de bilirrubina indireta, após a indução da anemia, reduziu (P<0,0001) no T1, T12, T24, T16d e T32d do G35, enquanto que após a transfusão, essa redução foi observada apenas no T32d do G35 (Tabela 2).

A concentração de glicose, após a indução da anemia, aumentou (P<0,0001) no T1 em todos os grupos. Após a transfusão observou-se aumento (P<0,0001) da glicose no T1 do G0 e G35, enquanto no G15 houve uma redução (P<0,0001) no T24 e T32d (Tabela 2).

A concentração de lactato, após a indução da anemia, aumentou (P<0,0001) no TC1 e T1 do G15, porém, após a transfusão observou-se redução (P<0,0001) do lactato do T6 ao T32d do G15. Os maiores valores de glicose e lactato pós-transfusão foram observados no T1 dos três grupos (Tabela 2).

Quanto às enzimas analisadas, na avaliação entre tempos, após a indução da anemia houve aumento (P<0,0001) da atividade da CK no T1 e T6 do G0 e redução (P<0,0001) da atividade da LDH no T32d do G0 e G15; da AST no T32d do G15; e da GGT no TC1 e T1 do G35. Após a transfusão houve aumento (P<0,0001) da atividade de LDH no T6, T12 e T8d do G0, no T1, T6 e T12 do G15 e no T12 do G35; da AST no T6 e T12 do G0, no T1, T6 e T12 do G15 e do G35; da GGT no T8d, T16d e T32d do G0, no T6 e T32d do G35; e da CK no T6 do G0 (Tabela 2).

Com relação à concentração de uréia houve diferença (P<0,01) entre os grupos, onde no TC1 do G15 e G35; no T1 do G15 e no T6 e T32d do G35 houve maior concentração de uréia do que o G0. Na comparação entre tempos, após a indução da anemia, houve redução da uréia a partir do T8d do G15 e T32d do G35. Após a transfusão, observou-se redução

(P<0,0001) da uréia a partir do T16d do G0; no T6 e a partir do T24 no G15; e a partir do T96 no G35 (Tabela 2).

Com relação à concentração de creatinina houve diferença (P<0,05) entre os grupos, onde do T96 ao T16d o G0 apresentou os maiores valores de creatinina. Na comparação entre tempos, após a transfusão houve aumento (P<0,0001) da creatinina apenas no T32d do G35 (Tabela 2).

A concentração de sódio não diferiu entre os grupos e nem entre os tempos estudados. A concentração de potássio reduziu (P<0,0001) após a perda de sangue no T1 do G15 e após a transfusão no T1 do G35 (Tabela 2).

Análise hemogasométrica: Não houve diferença entre grupos e entre os tempos estudados para o BE, HCO3- e TCO2 (Fig.1).

Com relação ao pH sanguíneo houve diferença (P<0,01) entre grupos nos momentos TC1 e T96, onde o G15 apresentou menor pH. Na comparação entre tempos, observou-se aumento (P<0,01) no pH no T1 do G15 quando comparado ao TC0 (Fig. 1).

Quanto ao PCO2, o G0 apresentou maior (P<0,05) PCO2 no T1 e o G15 apresentou maior (P<0,05) PCO2 no T96 (Fig. 1).

A PO2 foi maior (P<0,05) no T6 do G0 e G15. Na comparação entre tempos, após a indução da anemia e transfusão sanguínea observou-se redução (P<0,0001) na PO2 e SO2 no T96 do G0 e G15 (Fig. 1).

Análise do estresse oxidativo e peroxidação lipídica: A atividade da SOD foi maior (P<0,01) no momento basal, TC1, T1, T6 e T12 do G15; enquanto que menor (P<0,01) atividade foi observada no G35. Na comparação entre tempos, após a indução da anemia houve aumento (P<0,0001) da SOD no T16d do G0 e G35 e após a transfusão no T16d e T32d do G0 e no T16d do G35 (Fig. 2).

A atividade de GPX não diferiu entre os grupos e tempos estudados (Fig. 2).

A concentração de MDA não diferiu entre grupos em nenhum dos momentos analisados, no entanto na comparação entre tempos, após a indução da anemia e transfusão sanguínea observou-se aumento (P<0,0001) do MDA no T32d do G0; e redução (P<0,0001) do MDA do G35 após a indução da anemia no T96 e após a transfusão no T96, T8d e T16d (Fig. 2).

Tabela 1. Valores médios (X) e desvios padrão (S) das variáveis bioquímicas, hemogasométricas, peroxidação lipídica e do estresse oxidativo do sangue total fresco (B0), armazenado em bolsa CPDA-1 por 15 dias (B15) e armazenado por 35 dias (B35).

Variáveis		**Bolsas de sangue (CPDA-1)**		
		B0 (X±S)	B15 (X±S)	B35 (X±S)
Bioquímicas	Sódio (mmol/L)	159,00 ± 3,03	155,00 ± 8,07	148,00 ± 15,85
	Potássio (mmol/L)	$3,25 \pm 0,30^{B}$	$8,05 \pm 1,76^{A}$	$8,78 \pm 1,41^{A}$
	Glicose (mmol/L)	$31,43 \pm 3,21^{A}$	$27,63 \pm 2,68^{B}$	$27,90 \pm 1,08^{AB}$
	Lactato (mmol/L)	$3,01 \pm 0,54^{B}$	$5,04 \pm 1,16^{B}$	$8,40 \pm 3,64^{A}$
	LDH (U/L)	$246,27 \pm 60,46^{C}$	$441,33 \pm 65,54^{A}$	$355,58 \pm 40,61^{B}$
	Proteína total (g/L)	55,08 ± 4,25	55,70 ± 1,98	57,63 ± 3,75
	Albumina (g/L)	27,33 ± 1,51	27,00 ± 1,67	26,50 ± 2,66
Hemogasométricas	pH	$7,01 \pm 0,08^{A}$	$6,89 \pm 0,06^{B}$	$6,88 \pm 0,08^{B}$
	pCO_2 (mmHg)	$78,78 \pm 6,41^{B}$	$93,13 \pm 5,85^{A}$	$85,02 \pm 8,22^{B}$
	pO_2 (mmHg)	$42,67 \pm 4,55^{B}$	$44,50 \pm 4,64^{B}$	$121,17 \pm 40,54^{A}$
	SO_2 (%)	$53,00 \pm 8,15^{B}$	$47,00 \pm 6,03^{B}$	$90,50 \pm 7,31^{A}$
	TCO_2 (mmol/L)	22,67 ± 3,33	21,33 ± 1,97	18,67± 3,61
	HCO^{-}_3 (mmol/L)	20,35 ± 3,74	18,35 ± 1,95	16,13 ± 3,43
	BE (mmol/L)	-10,83 ± 4,36	-14,67 ± 2,88	-17,17 ± 4,83
Estresse Oxidativo	SOD (U/ g Hb)	$3331,48 \pm 466,30^{A}$	$4350,23 \pm 957,11^{A}$	$1948,14 \pm 777,62^{B}$
	GPx (U/ g Hb)	540,93 ±202,42	519,22 ± 104,71	359,63 ± 108,04
Peroxidação Lipídica	MDA (µmol/L)	$0,83 \pm 0,19^{B}$	$1,06 \pm 0,28^{B}$	$1,48 \pm 0,35^{A}$

$^{A, B, C}$ Diferença estatística ($p<0,05$) entre os grupos, no mesmo momento.

Tabela 2. Valores médios (X) e desvios padrão (S) de variáveis bioquímicas de caprinos submetidos à perda sanguínea e, posteriormente, à transfusão homóloga de sangue total fresco (G0), armazenado em bolsas CPDA-1 por 15 dias (G15) ou 35 dias (G35), nos tempos analisados.

		Momentos									
Variável	Grupos	TC0 (X±S)	TC1 (X±S)	T1 (X±S)	T6 (X±S)	T12 (X±S)	T24 (X±S)	T96 (X±S)	T8d (X±S)	T16d (X±S)	T32d (X±S)
Protéina Total (g/Ll)	G0	66,17 ± 4,18	53,13 ± 3,94$^{b¥}$	58,45 ± 5,71$^{a¥}$	61,22 ± 5,27^{a}	61,22 ± 3,76^{a}	60,50 ± 2,57$^{a¥}$	61,48 ± 2,48^{a}	62,45 ± 2,26^{a}	65,68 ± 3,77^{a}	65,92 ± 3,73^{a}
	G15	61,27 ± 1,72	49,92 ± 2,38$^{b¥}$	53,93 ± 2,84$^{b¥}$	55,98 ± 2,58^{a}	55,68 ± 2,91$^{a¥}$	55,80 ± 2,76$^{a¥}$	58,25 ± 2,77^{a}	60,47 ± 4,74^{a}	61,92 ± 4,14^{a}	67,60 ± 4,51$^{a¥}$
	G35	66,77 ± 4,17	53,30 ± 3,42$^{b¥}$	57,85 ± 5,37$^{b¥}$	60,27 ± 3,21$^{a¥}$	60,13 ± 2,98$^{a¥}$	59,17 ± 2,31$^{a¥}$	61,07 ± 2,44$^{a¥}$	61,50 ± 2,24^{a}	61,60 ± 5,01^{a}	64,20 ± 6,31^{a}
Albumina (g/L)	G0	32,33 ± 1,37^{AB}	27,83 ± 1,17$^{b¥}$	29,67 ± 1,97^{a}	31,00 ± 1,79^{Ab}	30,50 ± 1,05^{Ab}	30,67 ± 1,03^{Ab}	30,50 ± 0,55^{Ab}	30,67 ± 0,82^{b}	31,67 ± 0,82^{Aa}	28,75 ± 2,67^{b}
	G15	30,33 ± 1,63^{B}	25,83 ± 1,72$^{b¥}$	27,83 ± 1,33^{b}	28,17 ± 1,72^{Bb}	27,83 ± 0,98^{Bb}	27,83 ± 0,98^{Bb}	28,00 ± 0,63^{Bb}	28,33 ± 1,75^{b}	27,50 ± 2,74^{Bb}	28,73 ± 2,42^{a}
	G35	32,67 ± 3,61^{A}	28,00 ± 1,26$^{¥}$	29,50 ± 1,76$^{¥}$	30,33 ± 1,21^{AB}	30,00 ± 1,41^{AB}	29,67 ± 1,51$^{AB¥}$	30,17 ± 1,83^{AB}	29,67 ± 1,37$^{¥}$	29,00 ± 1,26$^{B¥}$	28,17 ± 1,94$^{¥}$
Bilirrubina Total (µmol/L)	G0	9,21 ± 14,15^{B}	6,70 ± 11,67^{B}	8,41 ± 9,88^{B}	8,38 ± 11,39^{B}	8,41 ± 10,87^{B}	8,09 ± 10,21^{B}	6,75 ± 10,97^{B}	9,29 ± 9,14	8,46 ± 9,11	6,84 ± 8,35
	G15	25,71 ± 6,71^{A}	21,40 ± 5,92$^{Aa¥}$	22,60 ± 4,82^{Aa}	22,86 ± 4,91^{Aa}	22,57 ± 4,18^{Aa}	21,20 ± 5,02$^{Aa¥}$	21,18 ± 4,38$^{Aa¥}$	20,75 ± 4,74$^{a¥}$	18,24 ± 4,96$^{a¥}$	14,42 ± 5,71$^{b¥}$
	G35	25,85 ± 14,04^{A}	19,67 ± 10,07$^{Aa¥}$	18,21 ± 8,13$^{ABa¥}$	20,09 ± 8,82$^{ABa¥}$	19,78 ± 7,99$^{ABa¥}$	19,69 ± 8,80$^{ABa¥}$	18,67 ± 7,46$^{Aa¥}$	19,72 ± 8,96$^{a¥}$	16,10 ± 7,35$^{a¥}$	11,97 ± 4,46$^{b¥}$
Bilirrubina direta (µmol/L)	G0	3,39 ± 6,41^{B}	2,34 ± 5,31^{B}	3,11 ± 5,40^{B}	2,59 ± 4,70^{B}	3,31 ± 5,76^{B}	2,91 ± 5,62^{B}	3,45 ± 5,92^{B}	4,05 ± 5,78^{B}	4,36 ± 5,31^{B}	3,31 ± 2,64
	G15	16,90 ± 3,55^{A}	13,48 ± 2,39$^{Aa¥}$	12,80 ± 1,36$^{Aa¥}$	14,79 ± 1,95^{Aa}	14,05 ± 1,80^{Aa}	13,79 ± 3,08$^{Aa¥}$	14,19 ± 1,14^{Aa}	13,25 ± 2,01$^{Aa¥}$	11,26 ± 2,44$^{Aa¥}$	5,67 ± 1,70$^{b¥}$
	G35	14,02 ± 8,44^{A}	11,17 ± 6,31^{A}	10,46 ± 5,57$^{A¥}$	11,60 ± 5,65^{A}	12,34 ± 5,78^{A}	11,97 ± 6,01^{A}	10,20 ± 5,03$^{A¥}$	11,34 ± 5,65^{A}	9,72 ± 4,30$^{AB¥}$	8,69 ± 4,62$^{¥}$
Bilirrubina indireta (µmol/L)	G0	5,81 ± 7,77	4,36 ± 6,46	5,30 ± 4,54	5,79 ± 6,84	5,10 ± 5,17	5,19 ± 4,61	3,31 ± 5,22	5,24 ± 3,51	4,10 ± 4,04	3,53 ± 5,85
	G15	8,81 ± 4,98	7,92 ± 4,57	9,80 ± 4,66	8,07 ± 3,43	8,52 ± 3,29	7,41 ± 4,26	6,98 ± 3,25	7,50 ± 3,41	6,98 ± 2,61	8,75 ± 4,09
	G35	11,83 ± 5,98	8,49 ± 4,18^{a}	7,75 ± 2,69$^{a¥}$	8,49 ± 3,30^{a}	7,44 ± 3,75$^{a¥}$	7,72 ± 2,88$^{a¥}$	8,46 ± 3,68^{a}	8,38 ± 3,49^{a}	6,38 ± 3,44$^{a¥}$	3,28 ± 1,78$^{b¥}$
AST (U/L)	G0	33,72 ± 4,80	30,17 ± 7,04^{b}	35,53 ± 7,13^{b}	40,82 ± 9,63^{a}	42,05 ± 9,56^{a}	39,55 ± 8,68^{b}	33,60 ± 6,11^{b}	34,78 ± 4,82^{b}	33,35 ± 6,30^{b}	30,07 ± 4,25^{b}
	G15	43,23 ± 6,33	37,22 ± 6,09^{b}	47,72 ± 14,97^{a}	49,85 ± 9,05^{a}	47,90 ± 7,71^{a}	46,08 ± 6,76^{b}	44,27 ± 8,56^{b}	42,70 ± 13,69^{b}	38,25 ± 4,61^{b}	29,77 ± 5,20$^{b¥}$
	G35	40,42 ± 8,56	35,65 ± 7,42^{b}	46,75 ± 9,88^{a}	48,78 ± 9,64^{a}	46,78 ± 8,55^{a}	41,73 ± 8,37^{b}	36,35 ± 6,64^{b}	35,68 ± 5,48^{b}	39,58 ± 6,83^{b}	37,60 ± 7,14^{b}
GGT (U/L)	G0	14,98 ± 6,17	10,02 ± 5,17^{b}	13,23 ± 2,57^{b}	15,02 ± 3,58^{b}	15,32 ± 2,66^{b}	15,60 ± 3,53^{b}	13,92 ± 5,70^{b}	16,63 ± 4,36^{a}	17,48 ± 4,65^{a}	17,12 ± 3,96^{a}
	G15	23,58 ± 5,31	18,27 ± 2,62	21,73 ± 3,39	23,07 ± 3,55	21,72 ± 4,68	22,27 ± 2,98	21,57 ± 2,81	20,18 ± 6,22	18,58 ± 3,65	18,88 ± 4,44
	G35	24,60 ± 8,50	15,75 ± 7,71$^{b¥}$	18,65 ± 7,65$^{b¥}$	21,73 ± 6,97^{a}	18,73 ± 6,28^{b}	19,93 ± 7,21^{b}	20,25 ± 6,77^{b}	20,97 ± 7,11^{b}	21,42 ± 7,04^{b}	23,07 ± 3,90^{a}
CK (U/L)	G0	33,13 ± 7,56	45,30 ± 21,33^{b}	195,68 ± 188,69$^{b¥}$	198,92 ± 167,10$^{a¥}$	101,07 ± 73,27^{b}	41,50 ± 11,71^{b}	57,40 ± 38,90^{b}	37,95 ± 12,82^{b}	43,63 ± 16,46^{b}	45,47 ± 14,36^{b}
	G15	59,78 ± 27,65	61,80 ± 16,85	125,55 ± 55,10	140,52 ± 97,42	115,13 ± 80,12	78,37 ± 39,26	74,72 ± 43,40	72,07 ± 49,14	58,47 ± 35,18	47,93 ± 5,27
	G35	85,57 ± 55,04	75,38 ± 27,65	191,03 ± 165,47	220,53 ± 285,51	95,87 ± 58,00	52,47 ± 15,46	59,27 ± 17,34	69,93 ± 52,39	53,48 ± 19,38	54,12 ± 22,49
LDH (U/L)	G0	263,77 ± 74,28	207,52 ± 72,41^{b}	261,47 ± 52,33^{b}	291,03 ± 63,64^{a}	282,05 ± 74,98^{a}	253,92 ± 60,90^{b}	233,28 ± 50,06^{b}	297,10 ± 55,56^{a}	246,40 ± 26,21^{b}	153,12 ± 36,05$^{b¥}$
	G15	248,63 ± 38,09	191,63 ± 31,49^{b}	285,02 ± 14,29^{a}	288,27 ± 15,27^{a}	280,62 ± 19,32^{a}	255,55 ± 16,17^{b}	225,32 ± 37,30^{b}	212,25 ± 24,50^{b}	194,35 ± 30,41^{b}	156,65 ± 47,71$^{b¥}$
	G35	224,85 ± 41,75	176,72 ± 37,96^{b}	247,72 ± 67,85^{b}	247,15 ± 32,12^{b}	257,90 ± 77,98^{a}	187,25 ± 38,05^{b}	181,57 ± 33,01^{b}	191,28 ± 44,58^{b}	225,83 ± 44,24^{b}	186,06 ± 23,29^{b}

Glicose (mmol/L)	G0	4,00 ± 0,20	4,83 ± 0,70^{b}	8,16 ± 3,41$^{a¥}$	4,75 ± 0,74^{b}	4,35 ± 0,73^{b}	3,76 ± 0,52^{b}	2,93 ± 1,26^{b}	3,21 ± 1,37^{b}	3,81 ± 0,51^{b}	3,72 ± 0,37^{b}
	G15	4,06 ± 0,43	5,94 ± 1,94^{a}	7,92 ± 0,92$^{a¥}$	4,15 ± 0,53^{a}	4,32 ± 0,52^{a}	3,78 ± 0,44^{b}	4,23 ± 0,44^{a}	4,11 ± 0,43^{a}	3,98 ± 0,66^{a}	3,07 ± 0,24^{b}
	G35	3,60 ± 0,42	4,46 ± 0,77^{b}	8,80 ± 3,72$^{a¥}$	3,89 ± 0,45^{b}	3,95 ± 0,45^{b}	3,59 ± 0,36^{b}	3,50 ± 0,17^{b}	3,22 ± 0,32^{b}	3,59 ± 0,50^{b}	3,90 ± 0,46^{b}
Lactato (mmol/L)	G0	1,67 ± 0,63	1,75 ± 0,46	2,19 ± 0,37	1,90 ± 0,75	1,36 ± 0,49	1,44 ± 1,07	0,73 ± 0,15	0,82 ± 0,20	1,51 ± 1,16	0,78 ± 0,37
	G15	1,46 ± 0,68	4,26 ± 1,83$^{a¥}$	3,44 ± 2,07$^{a¥}$	2,21 ± 1,16^{b}	2,14 ± 1,78^{b}	1,75 ± 1,03^{b}	1,27 ± 0,90^{b}	1,53 ± 0,46^{b}	1,92 ± 0,48^{b}	0,68 ± 0,28^{b}
	G35	1,74 ± 1,11	2,12 ± 1,15	2,72 ± 1,36	2,22 ± 0,82	1,48 ± 0,56	0,91 ± 0,48	1,01 ± 0,33	0,94 ± 0,25	1,72 ± 0,88	1,48 ± 0,66
Uréia (mmol/L)	G0	7,48 ± 1,25^{B}	8,36 ± 1,94^{Ba}	7,81 ± 1,55^{Ba}	8,29 ± 1,25^{Ba}	8,16 ± 1,66^{a}	7,98 ± 1,30^{a}	7,36 ± 1,02^{a}	7,31 ± 0,67^{a}	5,64 ± 0,75^{b}	5,87 ± 1,11^{Bb}
	G15	8,59 ± 1,29^{AB}	10,46 ± 2,07^{Aa}	9,57 ± 1,69^{ABa}	8,10 ± 0,67^{Bb}	8,47 ± 1,02^{a}	7,83 ± 1,67^{b}	7,21 ± 0,47^{b}	6,19 ± 1,40$^{b¥}$	5,38 ± 2,59$^{b¥}$	5,35 ± 1,28$^{Bb¥}$
	G35	9,42 ± 1,28^{A}	10,71 ± 1,57^{Aa}	11,27 ± 1,25^{Aa}	10,43 ± 1,11^{Aa}	9,39 ± 1,08^{a}	9,14 ± 1,33^{a}	8,13 ± 1,14^{b}	8,03 ± 1,71^{b}	7,99 ± 1,72^{b}	6,77 ± 1,50$^{Ab¥}$
Creatinina (µmol/L)	G0	96,65 ± 10,92	97,53 ± 12,24	105,79 ± 13,67	100,92 ± 15,71	97,09 ± 11,61	95,62 ± 7,30	97,39 ± 13,21^{A}	110,06 ± 11,48^{A}	114,63 ± 19,20^{A}	110,94 ± 12,16
	G15	90,02 ± 19,79	96,95 ± 19,34	97,68 ± 19,81	87,22 ± 13,00	85,31 ± 11,45	85,75 ± 10,56	81,33 ± 8,16^{AB}	81,77 ± 14,48^{B}	91,64 ± 10,92^{B}	98,71 ± 6,77
	G35	90,32 ± 13,12	83,10 ± 10,37^{b}	94,29 ± 10,99^{b}	89,28 ± 8,02^{b}	85,01 ± 8,49^{b}	88,11 ± 6,63^{b}	79,27 ± 8,87^{Bb}	90,17 ± 10,00^{Bb}	88,11 ± 4,28^{Bb}	106,67 ± 15,97^{a}
Sódio (mmol/L)	G0	146,83 ± 4,79	148,33 ± 4,08	150,33 ± 2,94	146,67 ± 22,37	150,33 ± 4,27	149,00 ± 7,13	145,67 ± 11,13	146,33 ± 2,66	152,00 ± 14,48	147,00 ± 3,03
	G15	142,67 ± 8,26	152,33 ± 9,50	151,67 ± 8,14	154,33 ± 8,14	146,00 ± 4,56	143,33 ± 14,18	144,00 ± 4,90	144,67 ± 6,02	144,00 ± 5,93	141,67 ± 6,38
	G35	147,33 ± 3,14	148,67 ± 6,50	146,67 ± 3,39	149,67 ± 2,88	147,83 ± 2,93	146,83 ± 5,88	146,50 ± 4,18	145,00 ± 6,42	141,67 ± 4,80	144,33 ± 1,51
Potássio (mmol/L)	G0	3,99 ± 0,32	3,49 ± 0,61	3,62 ± 0,50	3,90 ± 0,65	4,18 ± 0,52	3,85 ± 0,25	4,07 ± 0,45	4,13 ± 0,23	4,17 ± 0,52	3,73 ± 0,61
	G15	4,20 ± 0,79	3,79 ± 0,42	3,20 ± 0,45$^{¥}$	4,50 ± 0,83	3,85 ± 0,83	3,75 ± 0,79	4,25 ± 0,40	4,27 ± 0,63	4,47 ± 0,50	3,62 ± 0,22
	G35	3,99 ± 0,33	4,16 ± 0,41^{a}	3,23 ± 0,30^{b}	3,72 ± 0,38^{a}	4,18 ± 0,41^{a}	4,12 ± 0,46^{a}	4,43 ± 0,30^{a}	4,40 ± 0,52^{a}	4,60 ± 0,38^{a}	4,27 ± 0,40^{a}

$^{A, B}$ Diferença estatística ($p<0,05$) entre os grupos, no mesmo momento. $^{a, b}$ Diferença estatística ($p<0,05$) entre o TC1 e os demais momentos, no mesmo grupo. $^{¥}$ Diferença estatística ($p<0,05$) entre o TC0 e os demais momentos, no mesmo grupo.

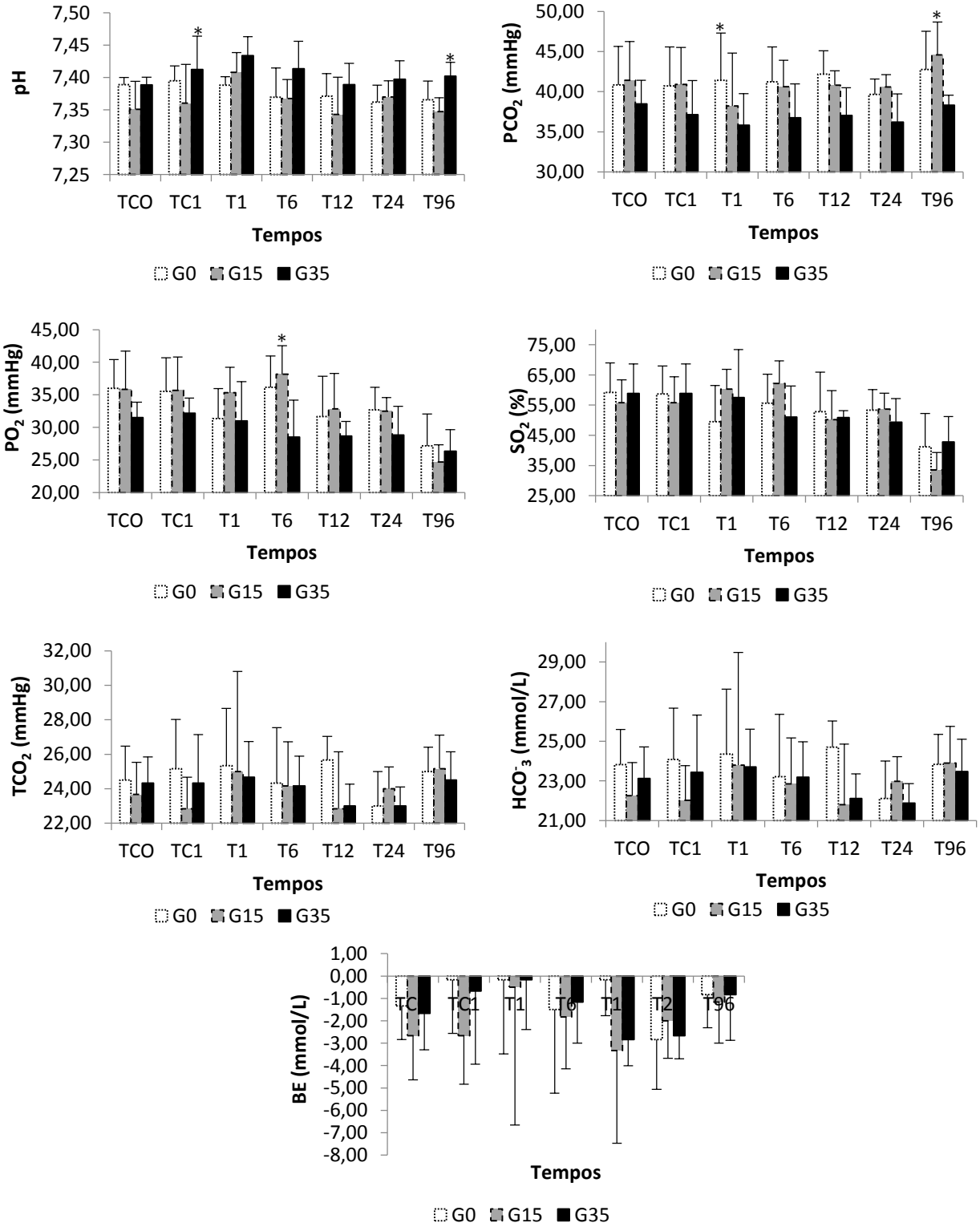

Fig.1. Análise hemogasométrica de caprinos submetidos à perda sanguínea e, posteriormente, à transfusão homóloga de sangue total fresco (G0), armazenado em bolsas CPDA-1 por 15 dias (G15) ou 35 dias (G35), nos tempos analisados. *Diferença estatística ($p<0,05$) entre os grupos no mesmo momento.

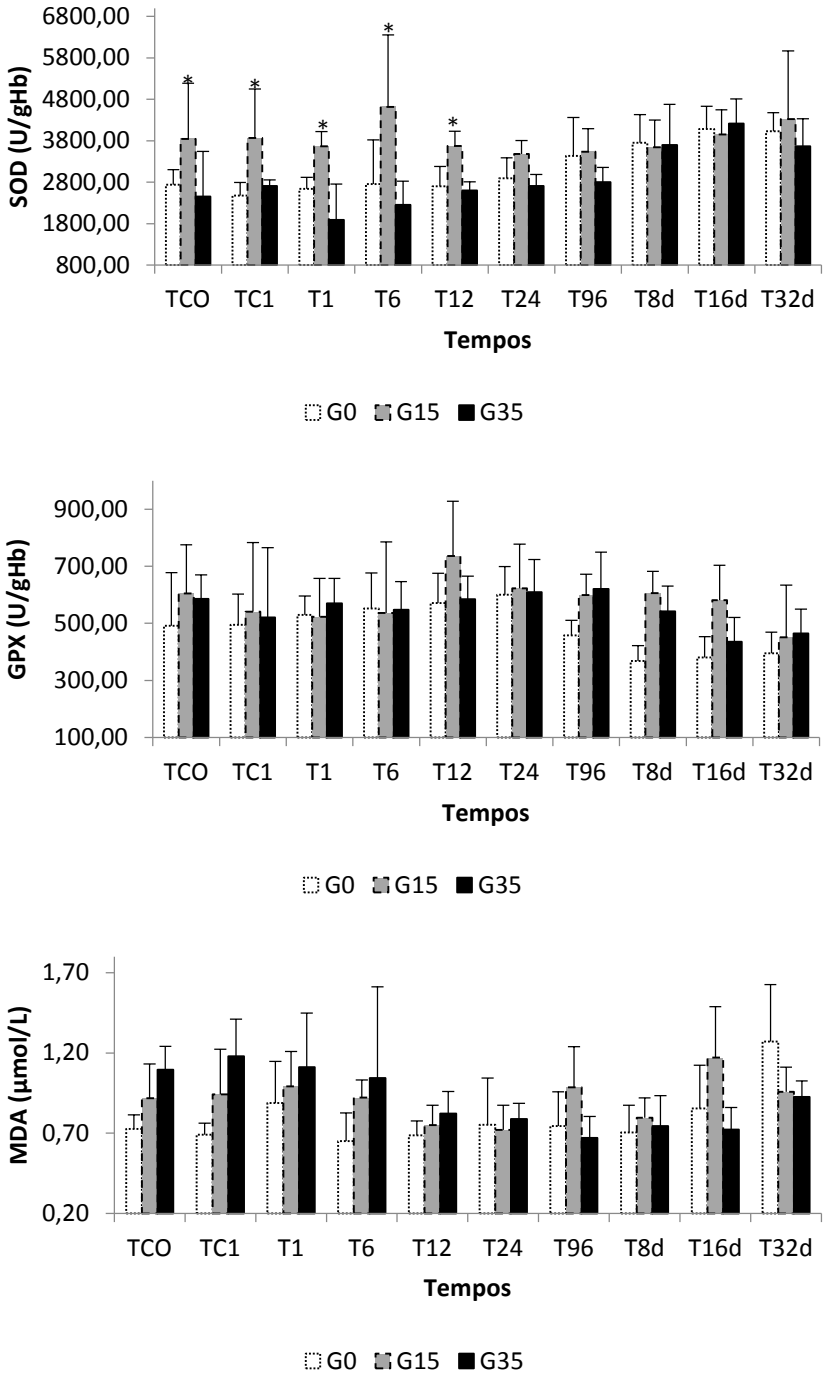

Fig.2. Atividade de SOD, GPx e concentração de MDA de caprinos submetidos à perda sanguínea e, posteriormente, à transfusão homóloga de sangue total fresco (G0), armazenado em bolsas CPDA-1 por 15 dias (G15) ou 35 dias (G35), nos tempos analisados. *Diferença estatística ($p<0,05$) entre os grupos no mesmo momento.

3.4 DISCUSSÃO

Na análise bioquímica das bolsas, não se observou diferença da concentração de sódio e proteínas totais entre os três períodos de armazenamento das bolsas de sangue corroborando com Tavares (2013), que ao avaliar o sangue caprino armazenado em bolsas CPDA-1, também não observou alteração nesses parâmetros até o período de armazenamento de 35 dias.

As bolsas armazenadas apresentaram maiores valores de potássio do que as bolsas de sangue fresco. Essa elevação de potássio no sangue armazenado já foi encontrada em outros estudos (Wallas 1979, Niinistö et al. 2008, Sousa 2012, Sousa et al. 2013) e ocorre porque durante o armazenamento, a temperatura reduz a atividade da ATPase na membrana do eritrócito impedindo o transporte ativo de Na+/K+ (sódio/potássio), com isso há o aumento de sódio intracelular e redução do potássio intracelular (Wallas 1979). Segundo Tomczak et al. (2010) a medição de K+ no meio extracelular é um marcador útil para o controle de qualidade durante a preservação.

O sangue armazenado por 15 dias apresentou menor teor de glicose quando comparado ao sangue fresco. Essa redução de glicose segundo Hess & Greenwalt (2002) ocorre porque durante o armazenamento a glicose é utilizada pelos eritrócitos como fonte energética para produção de ATP. Apesar disto, Tavares (2013) ao avaliar o sangue caprino armazenado em bolsas CPDA-1 por 35 dias não observou alteração no teor de glicose ao longo do período de armazenamento e associou ao baixo consumo da mesma pelas hemácias dos caprinos o que explica porque o sangue armazenado por 35 dias nesse estudo não diferiu no teor de glicose em relação ao sangue fresco.

O sangue armazenado por 35 dias apresentou maior teor de lactato corroborando com outros estudos (Niinistö et al. 2008, Sousa et al. 2013, Tavares 2013). Segundo Högman & Meryman (1999) os níveis de lactato aumentam durante o armazenamento devido à glicólise para produção de ATP e está associado às mudanças no pH, sendo que, para cada molécula de glicose metabolizada, duas moléculas de lactato são produzidas. Dessa forma, ocorre acidificação do meio, constituindo um dos grandes problemas na preservação das hemácias e fator limitante para sua viabilidade (Tomczak et al. 2010).

No sangue armazenado os valores de LDH foram maiores do que os do sangue fresco. Como essa enzima é presente em grande quantidade nas hemácias, estudos com armazenamento de sangue equino tem utilizado a atividade dessa enzima para auxiliar na avaliação de hemólise (Mudge et al. 2004). Sendo assim, no presente estudo, sugere-se que tenha ocorrido hemólise no sangue armazenado.

Na análise hemogasométrica, não foi observada diferença estatística entre as bolsas para o TCO2, HCO3- e BE. Esses três índices são calculados a partir de outros parâmetros que foram medidos através da leitura da amostra de sangue no cartucho que é inserido no hemogasomêtro. O HCO3- é responsável por aproximadamente 95% do TCO2 mensurado (Carlson & Bruss 2008), e este não se alterou nesse estudo, por consequência o HCO3- também não sofreu alteração na sua mensuração. O BE é um indicador do desvio de bicarbonato normal (Carlson & Bruss 2008), dessa forma, como nesse estudo não houve alterações no bicarbonato, por consequência também não houve alterações do BE. Tavares (2013) e Sousa et al. (2013) ao avaliar o sangue caprino e ovino armazenados em bolsas CPDA-1, respectivamente não observaram alteração no bicarbonato até o período de armazenamento de 35 dias, corroborando com esse estudo. Porém, Tavares (2013) observou elevação do déficit de base a partir de 21 dias de armazenamento e redução do TCO2 a partir de 35 dias de armazenamento.

As bolsas de sangue armazenadas apresentaram menores valores de pH quando comparadas com as bolsas de sangue fresco corroborando com outros estudos (Niinistö et al. 2008, Sousa et al. 2013, Tavares 2013). Esse menor valor de pH no sangue armazenado segundo Hess (2009) ocorre porque durante o armazenamento a degradação da glicose leva a produção de metabólitos, como lactato e íons H+, com consequente redução do pH e aumento da acidez. Porém, esse aumento de acidez nas bolsas de sangue armazenadas não foi suficiente para aumentar o consumo de HCO3- e desencadear, consequentemente redução nos seus níveis.

As bolsas armazenadas por 15 dias apresentaram maior PCO2 corroborando com outros estudos (Sousa et al. 2013) onde o armazenamento provocou elevação dessa variável gasométrica. Segundo Sousa et al (2012) essa elevação da pressão de CO2 durante o armazenamento ocorre principalmente para neutralizar o ácido lático resultante do metabolismo celular que resulta na síntese de CO2.

O sangue armazenado por 35 dias apresentou maior PO2 e SO2 corroborando com o estudo de conservação de sangue caprino realizado por Tavares (2013). O aumento da PO2 pode ser devido à passagem do oxigênio do meio externo para o interior da bolsa, já que essas são permeáveis (Högman & Meryman 1999). De acordo, com a curva de dissociação essa elevação da pressão parcial de oxigênio justifica o aumento da saturação de oxigênio, já que segundo a curva de dissociação da hemoglobina representando a afinidade do oxigênio com a hemoglobina, quanto maiores os valores da pressão parcial de oxigênio, maiores serão os valores da saturação de oxigênio (Harvey 2008).

Na avaliação do estresse oxidativo, houve menor atividade da enzima SOD nas bolsas armazenadas por 35 dias. Segundo, Hatherill et al. (1991) em condições oxidantes, a presença

de enzimas como SOD proporciona proteção das hemácias contra hemólise. Desta forma, sugere-se que nesse estudo a menor atividade da SOD nas bolsas de 35 dias está relacionada ao maior tempo de armazenamento que as hemácias foram expostas aos radicais livres, havendo assim maior consumo da enzima SOD e, consequentemente reduzindo o potencial antioxidante desta.

Na avaliação da peroxidação lipídica, observou-se maior formação de MDA nas bolsas de 35 dias. A determinação desse parâmetro é utilizada para estimar a intensidade da peroxidação lipídica, onde quanto maior a lesão oxidativa da membrana da hemácia e subsequentemente hemólise, maior será a formação do MDA (Józwik et al. 1997). Desta forma, sugere-se que nesse estudo as hemácias das bolsas de 35 dias sofreram hemólise por dano oxidativo provocado pelo maior período de armazenamento.

Com relação à análise hemogasométrica dos animais, observou-se que assim como as bolsas, os animais não diferiram quanto aos parâmetros de TCO2, HCO3- e BE. Na comparação entre grupos, observou-se que os animais do G15 apresentaram menor pH e maior PCO2 no T96. Essas alterações são características de acidose respiratória, a qual se desenvolve devido à dificuldade no transporte de oxigênio. Na tentativa de corrigir esse desequilíbrio (redução do pH e aumento da PCO2)a hemoglobina libera maior quantidade de oxigênio (efeito de Bohr) (Carlson & Bruss 2008), sendo que na comparação entre tempos do G15 observou-se houve menor PO2 e SO2 também no T96 como mecanismo compensatório. Porém, apesar destas alterações hemogasométricas observadas, a análise desses parâmetros mostrou que a perda aguda de sangue e subsequente transfusão com sangue homólogo fresco ou armazenado não foram suficientes para provocar distúrbio metabólico ou respiratório nos animais, pois todos os parâmetros ficaram dentro dos valores de referência para a espécie (Nunes et al. 2014).

Nesse estudo, observou-se que após a perda aguda de sangue houve redução das proteínas totais em todos os grupos para valores abaixo do normal para a espécie caprina (62–79 g/L) (Jackson & Cockcroft 2002). Porém, após 1 hora de transfusão no G0 e 6 horas de transfusão no G15 e G35 já se observou aumento nessa variável, sendo que o retorno aos valores basais ocorreu no T6 do G0 e G15 e 8 dias no G35. Argôlo (2014) ao analisar os efeitos da perda aguda de sangue em caprinos pela retirada de 30% da sua volemia, também verificou redução das proteínas totais, as quais retornaram a valores basais apenas com 24 dias pós desafio. Dessa forma, fica evidente que a transfusão de sangue fresco ou armazenado repõe proteínas totais, as quais mantiveram-se inalteradas durante o período de armazenamento, podendo ser utilizada em casos de hipoproteinemia.

Após a perda aguda de sangue houve redução da albumina em todos os grupos para valores abaixo do normal para a espécie caprina (29–43 g/L) (Jackson & Cockcroft 2002). Porém, após 1 hora de transfusão no G0 e G15 e 6 horas de transfusão no G35 houve retorno aos valores basais e de referencia. Argôlo (2014) ao analisar os efeitos da perda aguda de sangue em caprinos pela retirada de 30% da sua volemia, também verificou redução da albumina, a qual retornou à valores basais apenas com 8 dias pós desafio. Apesar do rápido retorno aos valores basais, observou-se que após a transfusão houve aumento da albumina apenas no T1 do G0, o que sugere que o sangue total fresco pode repor a albumina em casos de hipoalbuminemia. Além disso, essa resposta dos níveis séricos de albumina serve também como indicador do bom funcionamento hepático pós-transfusão, visto que segundo Tennant & Center (2008) essa proteína é produzida exclusivamente no fígado.

A bilirrubina é o principal produto da metabolização da hemoglobina e aumenta os seus níveis em caso de hemólise (Tennant & Center 2008). Nesse estudo, na comparação entre grupos, foi observada maior concentração de bilirrubina total do T1 ao T96 e de bilirrubina direta do T1 ao T16d nos animais que receberam sangue armazenado, no entanto esses valores juntamente com o da bilirrubina indireta permaneceram dentro dos normais para a espécie (1,71 – 29,24 µmol/L) (PUGH 2004). Portanto, diante dos níveis normais de bilirrubina percebe-se que não houve hemólise e a transfusão de sangue fresco ou armazenado não ocasionou lesão hepática.

A análise de AST, GGT, LDH e CK foi realizada para verificar possíveis lesões hepáticas pós-transfusionais. A atividade dessas enzimas não diferiu entre grupos. Porém, entre tempos observou-se que após a transfusão houve aumento da atividade de LDH e AST nos 3 grupos estudados; da GGT no G0 e G35 e da CK no G0. Dessas alterações observadas apenas a CK elevou-se acima dos valores de referência para a espécie (0–100 U/L) (Jackson & Cockcroft 2002) nos 3 grupos retornando aos valores normais após 24horas da transfusão. A hipótese provável é que durante o período que os animais permaneceram em decúbito para realização da transfusão ocorreram micro lesões musculares elevando os teores dessa enzima. Esse achado também foi relatado em ovinos por Sousa (2012).

Após a transfusão observou-se aumento significativo da glicose no T1 do G0 e G35 e numérico no T1 do G15 acima dos valores de referência para a espécie (2.4–4.0 mmol/L) (Jackson & Cockcroft 2002), porém após 6 horas da transfusão, os valores retornaram à normalidade. Dessa forma, verificou-se que a transfusão de sangue fresco ou armazenado funciona como um bom repositor de glicose, mesmo que de forma rápida, e que a função

hepática dos animais não foi comprometida mediante à transfusão, visto que o fígado rapidamente equilibrou a concentração sérica de glicose.

Quanto ao lactato, apesar da elevação dos seus níveis nas bolsas de sangue armazenada por 35 dias, após a transfusão não foi visto alterações relevantes nesse grupo.

Após a perda aguda de sangue e transfusão a concentração de uréia foi maior nos animais que receberam sangue armazenado, havendo uma discreta elevação em relação aos valores de referência para a espécie 4.0–8.6 (mmol/L) (Jackson & Cockcroft 2002), mas que 6 horas no G15 e 96 horas no G35 após a transfusão esses valores já haviam retornado à normalidade para a espécie. Dessa forma, percebe-se que a transfusão melhorou a perfusão renal mesmo em animais que receberam sangue armazenado. Já a creatinina foi maior no G0 do T96 ao T16d, mas manteve-se dentro dos valores de referência para a espécie (54–123 µmol/L) (Jackson & Cockcroft 2002).

O tempo de armazenamento apesar de ter afetado a bomba de Na+/K+, com maior efluxo de potássio, após a transfusão não houve diferença da concentração de sódio entre grupos e tempos estudados, enquanto que foi observado redução da concentração de potássio no T1 do G35, porém este ficou dentro dos valores de referência para a espécie (3.4–6.1 mmol/L) (Jackson & Cockcroft 2002). Desta forma, nesse estudo evidenciou-se que a função renal de reabsorção destes eletrólitos estava funcionando normalmente e que a bomba de Na+/K+ retornou rapidamente às suas funções equilibrando novamente os níveis desses íons 6 horas após a transfusão.

Na análise do estresse oxidativo dos animais, não houve diferença na atividade da GPX entre grupos e tempos estudados, diferentemente da atividade da SOD, onde na comparação entre grupos, observou-se que após a transfusão até o T12, houve maior atividade no G15 e menor no G35. Sousa (2012) ao avaliar o estresse oxidativo em ovinos transfundidos com sangue fresco e armazenado não observou diferença entre grupos para SOD e GPX. Segundo Nazifi et al (2009) essas enzimas fazem parte do sistema antioxidante do caprino e agem protegendo-o da ação de radicais livres, sendo a SOD a primeira linha de defesa contra estes radicais. Nesse estudo, a alteração da SOD no G15 e G35 mostra que houve desordem no sistema antioxidante dos caprinos desses grupos, dessa forma sugere-se que a maior atividade da SOD no G15 foi devido maior quantidade de radicais livres nas bolsas de 15 dias, enquanto que as bolsas armazenadas por 35 por terem tido maior consumo da SOD durante o armazenamento apresentaram menos radicais livres causando, consequentemente, menor atividade antioxidante no G35.

O MDA é um dos produtos da peroxidação de lipídeos e sua concentração é bastante utilizada como indicador de lesão celular (Esterbauer & Cheeseman 1990, Nazifi et al. 2009). Nesse estudo, não houve diferença entre os grupos para a concentração de MDA corroborando com Sousa (2012) que em estudo similar em ovinos também não observou diferença entre o sangue conservado e o fresco para a concentração desse parâmetro. Desta forma, sugere-se que a carga de espécies reativas do oxigênio produzida pelo armazenamento de sangue em bolsas CPDA-1 por 15 e 35 dias não promoveu peroxidação lipídica suficiente para elas serem diferenciadas após a transfusão do sangue fresco.

3.5 CONCLUSÕES

A avaliação das bolsas de sangue mostrou que o sangue total armazenado apresentou mais alterações bioquímicas, hemogasométricas, de estresse oxidativo e peroxidação lipídica quando comparadas com as bolsas de sangue total fresco, mas que não inviabilizam seu uso como recurso terapêutico em caprinos.

A transfusão de sangue homólogo total fresco ou armazenado em caprinos não compromete a gasometria, peroxidadação lipídica e funções hepática e renal dos animais transfundidos. Além disso, mostrou-se eficaz em repor entre outros componentes, proteínas totais, podendo ser utilizada em pacientes com hipoproteinemia.

Sendo assim, a transfusão de sangue homólogo total fresco ou conservado em caprinos, conforme realizada neste estudo, mostrou-se segura para ser utilizada na prática clínica desta espécie.

REFERÊNCIAS

Argôlo E.P. 2014. Respostas à perda sanguínea aguda em caprinos. Dissertação de Mestrado em Ciência Animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, RN. 61p.

Barros, I.O. 2011. Avaliação da conservação do sangue total de jumentos (Equus asinus) acondicionado em bolsas de sangue do tipo CPDA-1 e CPD/SAG-M. Dissertação de Mestrado em Ciência Animal. Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, RN. 79p.

Bertoletti, B. 2011. Peroxidação lipídica e parâmetros bioquímicos do sangue total felino armazenado em bolsas plásticas contendo CPDA-1 e CPD/SAG-M. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS. 42 p.

Carlson G.P. & Bruss M.L. 2008. Fluid, electrolyte and acid-base balance, p. 529-559. In: Kaneko J.J., Harvey J.W & Bruss M.L. (Eds.), Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 6th ed. Academic Press, San Diego. 916p.

Costa Júnior, J., Viana J.A., Ribeiro Filho J.D.; Favarato E.S., Mata L.C. & Argôlo Neto, N. 2008. Parâmetros bioquímicos e hemogasométricos do sangue total canino armazenado em bolsas plásticas contendo. CPDA-1 e CPD/SAG-M. Ciência Rural, 38:2(378-383).

Esterbauer, H.; Cheeseman, K.H. 1990. Determination of Aldehydic Lipid Peroxidation Products: Malonaldehyde and 4-Hydroxynonenal. Methods in enzymology. 186:407-421.

Harvey, J.W. 2008. The Erythrocyte: Physiology, Metabolism, and Biochemical Disorders, p. 173-240. In: Kaneko J.J., Harvey J.W & Bruss M.L. (Eds.), Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 6th ed. Academic Press, San Diego. 916p.

Hatherill J.R., Till G.O. & Ward P.A. 1991. Mechanisms of oxidant-induced changes in erythrocytes. Agents and Actions, 32(3/4):351-358.

Hess J.R. & Greenwalt T.J. 2002. Storage of blood cells: new approaches. Transfusion Medicine Review. 16(4):283-295.

Hess J.R. 2009. Red cell storage: when is better not good enough? Blood Transfus. 7:172-173.

Högman C.F. & Meryman H.T. 1999. Storage parameters affecting red blood cell survival and function after transfusion. Transfusion Medicine Reviews, 13(4):275–296.

Hunt & Moore J.S. 1990. Use of blood and blood products. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice. 6(1):133-147.

Jackson, P.G.G. & Cockcroft P.D. 2002. Clinical Examination of Farm Animals. Blackwell Science, Oxford. 313p.

Józwik M., Józwik M., Józwik M., Szczypka M., Gajewska J. & Laskowska-Klita T. 1997. Antioxidant defence of red blood cells and plasma in stored human blood. Clinica Chimica Acta, 267(2):129-142.

Lacerda, L. 2005. Transfusão sanguínea em veterinária: desafios a vencer, p. 62-81. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; SANTOS, A. P. (Eds.). Anais do II Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 91p.

Liebich H.-G., Forstenpointner G., Pérez, W. & König, H.E. Introdução e Anatomia Geral, p.1-52. In: König H. E., Liebich H.-G. (Eds.). 2016. Anatomia dos animais domésticos: texto e atlas colorido. Tradução por Regis Pizzato. 6ed. Artmed, São Paulo. 824p.

Mudge, M.C., Macdonald M.H., Owens S.D. & Tablin F. 2004. Comparison of 4 Blood Storage Methods in a Protocol for Equine Pre-operative Autologous Donation. Vet. Surg. 33(5):475-486.

Nazifi S., Saeb M., Ghafari N., Razeghian I., Razavi S.M., Vosoughi F., Dehghani F. & Orangi H. 2009. Reference values of oxidative stress parameters in adult native iranian goats. Bulgarian Journal of Veterinary Medicine.12(2):119−124.

Niinistö K., Raekallio M. & Sankari S. 2008. Storage of equine red blood cells as a concentrate. The Veterinary Journal. 176:227–231.

Nunes T.L., Oliveira M. G.C., Paiva A. L. C., Bezerra T.C.G., Barrêto-Júnior R.A. & Paula V. V. 2014. Valores hemogasométricos e eletrolíticos de caprinos (Capra Hircus) da raça Canindé criados no semiárido nordestino. Rev. Bras. Med. Vet. 36(3):255-260.

Pugh, D.G. 2004. Clínica de ovinos e caprinos. Roca, São Paulo. 528p.

Reichmann, P. & Dearo, A.C.O. 2001. Transfusão de sangue e seus derivados em grandes animais. Semina Ciências Agrárias. 22(2):223-228.

Sousa R.S., Barrêto-Júnior, R.A., Sousa I.K.F., Chaves D.F., Soares H.S., Barros I.O., Minervino A.H.H. & Ortolani E.L. 2013. Evaluation of hematologic, blood gas, and select biochemical variables in ovine whole blood stored in CPDA-1 bags. Vet. Clin. Pathol. 42(1): 27-30.

Sousa R.S., Barros I.O., Tavares M.D., Sousa I.K.F., Oliveira G. B. de, Minervino A.H.H. & Barrêto-Júnior R.A. 2012a. Lesões de armazenamento durante a conservação de sangue nas diferentes espécies: uma revisão. Acta Veterinaria Brasilica. 6(2):p.68-79.

Sousa R.S., Chaves D.F., Barrêto-Júnior R.A., Sousa I.K.F., Soares, H.S., Barros I.O., Minervino A.H.H. & Ortolani, E.L. 2012b. Clinical, haematological and biochemical responses of sheep undergoing autologous blood transfusion. BMC Veterinary Research, 8(61):1-7.

Sousa R.S. 2012. Avaliação da transfusão sanguínea homóloga em ovinos. Dissertação de Mestrado em Ciência Animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, RN. 168p.

Tavares, M.D. 2013. Avaliação hematológica, bioquímica e hemogasométrica de sangue caprino armazenado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M. Dissertação de Mestrado em Ciência Animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, RN. 73p.

Tennant B. C. & Center S. A. 2008. Hepatic Function, p. 379-412. In: Kaneko J.J., Harvey J.W & Bruss M.L. (Eds.), Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 6th ed. Academic Press, San Diego. 916p.

Tomczak A.C.T.Q., Grilo K.T.M., Castro J.M., Machado A.M.B., Leonart M.S.S. & Nascimento A.J. 2010. Estudo de métodos laboratoriais para o controle de qualidade de unidades transfusionais eritrocitárias no Centro de Hematologia e Hemoterapia do Paraná (Hemepar), Brasil. Rev. Bras. Hematol. e Hemoter. 32(3):209-214.

Wallas C.H. 1979. Sodium and Potassium Changes in Blood Bank Stored Human Erythrocytes. Transfusion. 19(2):210-215.