



## **NIVEIS DE COLESTEROL SÉRICO DE RATOS WISTAR MENSURADOS ATRAVÉS DE DIFERENTES MÉTODOS DE COLHEITA**

Isabela M.M.Cersosimo, Juliana Ramos Pereira, Karina Popovicz, Simone Conterno, Margarete Kimie Falbo, Giuliana G.K. Botelho (Orientador), e-mail: giuliana@unicentro.br

Universidade Estadual do Centro-Oeste/Departamento de Medicina Veterinária/Guarapuava, PR.

### **Área e sub-área do conhecimento conforme tabela do CNPQ**

**Área: 5.00.00.00-4 Ciências Agrárias**

**Sub-área: 5.05.03.03-0 Patologia Clínica Animal**

**Palavras-chave:** colesterol, estresse, métodos de colheita.

### **Resumo:**

Existem diferentes métodos de colheita de sangue que são empregados em animais de experimentação para a realização de análises bioquímicas, como a mensuração do colesterol sérico. Estes métodos variam conforme a invasibilidade do procedimento e necessidade ou não de contenção farmacológica. No presente trabalho foram utilizados dois diferentes métodos de colheita de sangue: punção de veia safena com contenção física e punção cardíaca sob anestesia geral. Os resultados da dosagem de colesterol foram comparados e diferenças significativas foram observadas entre os métodos.

### **Introdução**

Devido à natureza integrativa do sistema endócrino e seu papel na regulação da alostase, o preciso acompanhamento da função endócrina de um animal pode fornecer importantes informações sobre aspectos fisiológicos e comportamentais.

A colheita de sangue de animais de laboratório é necessária para uma grande variedade de estudos científicos e há uma grande diversidade de métodos disponíveis. Deve-se atentar para a forma de realização do procedimento porque ela pode estressar o animal, podendo interferir nos dados da pesquisa. São descritas na literatura técnicas que não requerem anestesia para colheita de sangue, técnicas que necessitam de anestesia e procedimentos terminais. Dentre as técnicas que não requerem anestesia, destaca-se a colheita de sangue da veia safena e da veia dorsal pedal. Exemplo de colheita que requer anestesia é a técnica de retirada de sangue da veia jugular, além de procedimentos terminais, como punção cardíaca (Hoff, 2000; Bronstad, 2001).



Hoff (2000) citou uma série de fatores que devem ser considerados na escolha da técnica e do local de colheita de sangue em camundongos, como a frequência da colheita, uso de anestésicos, efeito nos parâmetros sanguíneos, volume requerido, dentre outros, com o objetivo de se obter dados mais confiáveis, de forma a estressar de maneira menos intensa os animais empregados nos estudos.

Todos os hormônios esteróides, inclusive aqueles implicados nas respostas de estresse são sintetizados a partir do colesterol. O colesterol necessário para a biossíntese dos hormônios esteróides é obtido de várias fontes (Koolman e Roehm, 2005). Nas adrenais, um suprimento constante de colesterol livre é utilizado como precursor para a síntese de mineralocorticóides e glicocorticóides.

No presente trabalho objetivou-se avaliar as diferenças entre os níveis de colesterol no sangue obtido a partir de dois diferentes métodos de colheita: punção de veia safena e punção cardíaca. Foram comparados os resultados com o objetivo de analisar possíveis variações entre métodos que diferem quanto à invasibilidade e forma de contenção.

## **Materiais e métodos**

Foram utilizados 19 ratos machos da espécie *Rattus norvegicus* variedade Wistar, provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual do Centro-Oeste, com idade média de 60 dias e peso médio de 250g. Os animais foram mantidos em ambiente com temperatura controlada (entre 18 e 21°C), recebendo alimento e água à vontade durante todo o período. Os ratos foram alojados em caixas coletivas de polipropileno na proporção de 3 animais por caixa. O experimento foi realizado no Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Centro-Oeste.

Os ratos receberam ração padrão para roedores e o experimento foi realizado durante um período de 60 dias consecutivos. A massa corporal de cada animal foi registrada diariamente durante todo o tratamento.

Nos dias 0, 15, 30 e 45 do início do experimento, foram realizadas as colheitas de sangue dos animais para a avaliação dos níveis de colesterol. As amostras de sangue foram obtidas por meio de punção da veia safena com a utilização de tubo capilar. O sangue foi centrifugado e o soro armazenado em freezer -20° para a realização das dosagens de colesterol.

Os animais foram mortos por meio da administração de anestésicos, 24 horas após o último tratamento e nesta ocasião foi realizada uma última colheita de sangue, via punção cardíaca, o qual foi centrifugado, sendo o soro utilizado para dosagem de colesterol.

## **Resultados e Discussão**

Após analisadas todas as amostras, foi feita a média do nível de colesterol das amostras de sangue colhido através de punção da veia safena nos dias 0, 15, 30 e 45 e esta foi comparada com o nível de colesterol no sangue da

última amostra, obtida no dia 60 através de punção cardíaca com animal anestesiado. Os resultados obtidos podem ser observados na Figura 1.

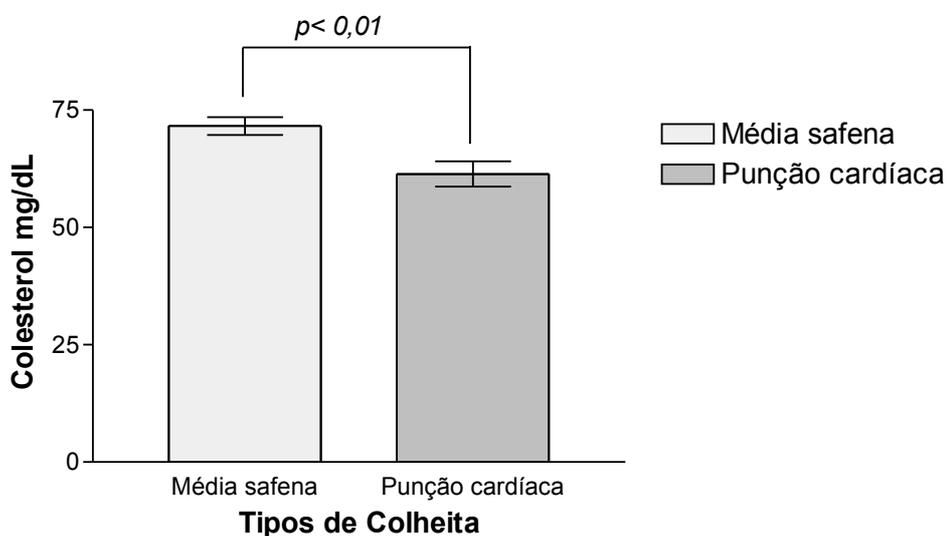


Figura 1: Distribuição dos níveis médios de colesterol em amostras obtidas por meio de colheitas repetidas através de punção de veia safena e de uma única punção cardíaca sob anestesia.

Os resultados demonstraram diferença significativa nos níveis de colesterol encontrados no sangue colhido por punção cardíaca em comparação com a média do sangue colhido através da veia safena.

Estudos antigos já demonstraram elevações nos níveis de colesterol sérico de pacientes submetidos a situações estressantes (Francis, 1979; Julius et al., 1992). No presente estudo, foram observados maiores níveis de colesterol nos animais submetidos à colheita sanguínea através de punção safena, corroborando estes estudos, uma vez que esta forma de colheita é realizada sob contenção física. A possibilidade de realização de colheitas seriadas, porém, proporciona um acompanhamento temporal dos pacientes e a comparação entre as diferentes dosagens do próprio paciente.

## Conclusões

Com este trabalho foi possível comparar os resultados dos níveis de colesterol no sangue de ratos através de diferentes métodos de colheita, e assim concluir, que houve diferença nestes níveis mensurados a partir do sangue colhido da veia safena e por punção cardíaca, sendo esse segundo método, aparentemente menos estressante aos animais. No entanto, a punção da veia safena constitui um método fundamental quando se trata de pequenas quantidades de sangue e pretende-se manter os animais sob acompanhamento durante o experimento.



## Referências

- Bronstad, A. Blood collection using the saphenous vein: an alternative to retro-orbital collection. 2001. Disponível em: [http://www.uib.no/vivariet/mou\\_blood/Blood\\_coll\\_mice\\_.html](http://www.uib.no/vivariet/mou_blood/Blood_coll_mice_.html). Acesso em: 27/07/2010.
- Francis, K. T. Psychologic correlates of serum indicators of stress in man: a longitudinal study. *Psychosom Med.* 41:617-628, 1979.
- Hoekstra, M.; Meurs, I.; Koenders, M.; Out, R.; Hildebrand, R. B.; Kruijt, J. K.; Van Eck, M.; Van Berkel, T.J. Absence of HDL cholesteryl ester uptake in mice via SR-BI impairs an adequate adrenal glucocorticoid-mediated stress response to fasting. *J Lipid Res.* 49:738-745, 2008.
- Hoff J. Methods of blood collection in the mouse. *Lab Anim.* 29:47-53, 2000.
- Jankowski, M. D.; Wittwer, D. J.; Heisey, D. M.; Franson, J.C.; Hofmeister, E. K. The adrenocortical response of greater sage grouse (*Centrocercus urophasianus*) to capture, ACTH injection, and confinement, as measured in fecal samples. *Physiol Biochem Zool.* 82:190-201, 2009.
- Julius, S.; Jamerson, K.; Gudbrandsson, T.; Schork, N. White coat hypertension: a follow-up. *Clin Exp Hypertens A.* 14:45-53, 1992.
- Koolman, J; Roehm, K. H. Color Atlas of Biochemistry. 2 ed., Thieme, 2005.