



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.

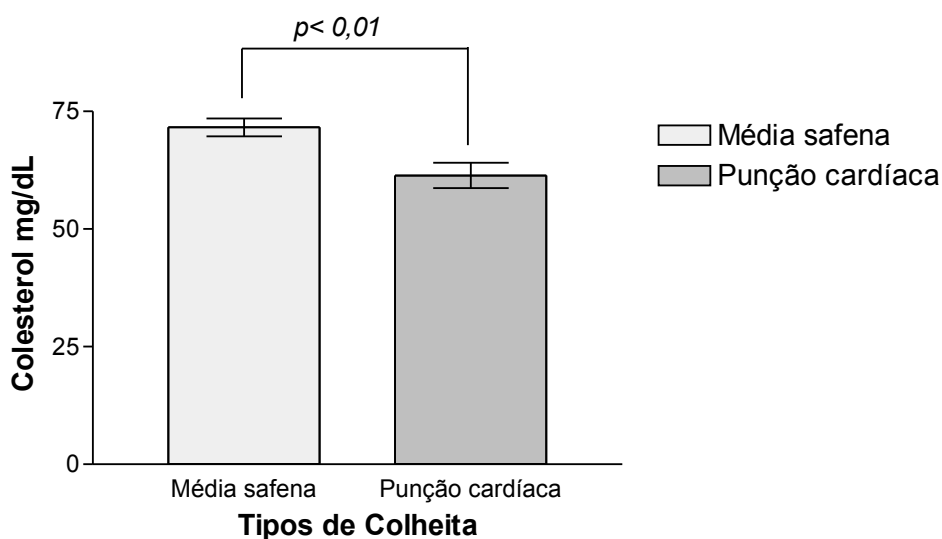


Figura 1: Distribuição dos níveis médios de colesterol em amostras obtidas por meio de colheitas repetidas através de punção de veia safena e de uma única punção cardíaca sob anestesia.

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. 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.