

**JAIR DUARTE DA COSTA JÚNIOR**

**AVALIAÇÃO DO SANGUE TOTAL DE CÃES ARMAZENADO EM  
BOLSAS PLÁSTICAS CONTENDO CPDA-1 E CDP/SAG-M**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa,  
como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em  
Medicina Veterinária, para obtenção  
do título de *Magister Scientiae*.

**VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2006**

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

C837a  
2006  
Costa Júnior, Jair Duarte, 1979-  
Avaliação do sangue total de cães armazenado em bolsas  
plásticas contendo CPDA-1 e CPD/SAG-M / Jair Duarte  
Costa Júnior. – Viçosa : UFV, 2006.  
viii, 39f. : il. ; 29cm.

Inclui anexos.  
Orientador: José Antônio Viana.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de  
Viçosa.  
Referências bibliográficas: f. 30-33.

1. Hematologia veterinária. 2. Sangue - Coleta e  
preservação. 3. Sangue - Análise e química. 4. Sangue -  
Transfusão. 5. Cão. I. Universidade Federal de Viçosa.  
II. Título.

CDD 22.ed. 636.0896075

**JAIR DUARTE DA COSTA JÚNIOR**

**AVALIAÇÃO DO SANGUE TOTAL DE CÃES ARMAZENADO EM  
BOLSAS PLÁSTICAS CONTENDO CPDA-1 E CDP/SAG-M**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 19 de setembro de 2006

---

Prof. José Dantas Ribeiro Filho  
(Co-orientador)

---

Prof. Cláudio César Fonseca

---

Prof. Rubens Antônio Carneiro

---

Prof. Paulo Renato dos Santos Costa

---

Prof. José Antônio Viana  
(Orientador)

## AGRADECIMENTOS

A Deus, minha essência e meu propósito. Dono de todas as “minhas” conquistas... Senhor, essa vitória é sua!

À minha família, Jair, Márcia e Felipe. Fonte de tanta força, mesmo em momentos tão insólitos. Amo todos vocês.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG, pelo financiamento do projeto e pela bolsa de estudos.

Ao meu orientador, Prof. Dr. José Antônio Viana, por todo o apoio e serenidade durante todo o período da pós-graduação. Um exemplo de profissional.

Aos meus co-orientadores, Prof. Dr. José Dantas Ribeiro Filho e Prof. Dr. Lissandro Gonçalves Conceição, que nortearam minha conduta durante todo o projeto.

Aos colegas, Evandro Favarato, Lukiya Campos Mata e Napoleão Argolo Neto que tanto ajudaram nos árduos dias do experimento. Muito mais que amigos.

À Juliana Cunha por todo carinho, mesmo que na fase final dos trabalhos.

À MV. Waleska Ferreira Dantas pela pronta ajuda e incomensurável auxílio no experimento.

À Prof<sup>a</sup>. Dr. Nelci Fenalti Höehr, do Hospital das Clínicas da UNICAMP, pela inestimável ajuda nos exames bioquímicas do DPG.

Ao Prof. Dr. Efraim Lázaro Reis por disponibilizar os equipamentos do departamento de Química para as análises do material.

Ao MV. Carlos Cardoso, e toda sua equipe da Universidade Federal de Ouro Preto, pela singular ajuda nas análises do Sódio e Potássio.

Aos técnicos do laboratório de Patologia Clínica, Lucinda, Aécio e Luiz Márcio, pela paciência e atenção durante toda a fase experimental do projeto.

Aos professores e funcionários do setor de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Pública que tão pacientemente disponibilizaram a capela para a manipulação das amostras.

A todos os professores e funcionários do Departamento de Veterinária da UFV que direta ou indiretamente contribuíram com o estudo.

Aos animais, seres tão queridos e razão de todo esse empenho.

A Universidade Federal de Viçosa que possibilitou todo este estudo.

“... Sei em quem pus minha confiança, e estou certo de que é assaz poderoso para guardar meu depósito até aquele dia.”

2 Timóteo 1, 12

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	v
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	vi
<b>RESUMO</b> .....	vii
<b>ABSTRACT</b> .....	viii
<b>1-INTRODUÇÃO</b> .....	01
<b>2 - REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	03
<b>3 - MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	09
<b>3.1 Local</b> .....	09
<b>3.2 Coleta das Amostras</b> .....	09
<b>3.3 Momentos das Avaliações Laboratoriais</b> .....	10
<b>3.4 Avaliação Laboratorial</b> .....	10
<b>3.5 Análise Estatística</b> .....	12
<b>4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	13
<b>4.1 Proteína Plasmática Total</b> .....	13
<b>4.2 Glicose Plasmática</b> .....	14
<b>4.3 Sódio Plasmático</b> .....	15
<b>4.4 Potássio Plasmático</b> .....	16
<b>4.5 Número de Eritrócitos</b> .....	18
<b>4.6 2,3-Difosfoglicerato (2,3-DPG ou DPG)</b> .....	19
<b>4.7 pH</b> .....	21
<b>4.8 Pressão Parcial de Oxigênio (pO<sub>2</sub>)</b> .....	22
<b>4.9 Pressão Parcial de Dióxido de Carbono (pCO<sub>2</sub>)</b> .....	23
<b>4.10 Bicarbonato Plasmático (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>)</b> .....	24
<b>4.11 Morfologia Celular</b> .....	25
<b>4.12 Anisocitose</b> .....	26
<b>5 – CONCLUSÕES</b> .....	28
<b>6– REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	29
<b>7 – ANEXO</b> .....	33

**LISTA DE FIGURAS**

<b>Figura 1:</b> Representação dos valores médios da Proteína Plasmática Total .....	14
<b>Figura 2:</b> Representação dos valores médios da Glicose Plasmática .....	15
<b>Figura 3:</b> Representação dos valores médios do Sódio Plasmático .....	16
<b>Figura 4:</b> Representação dos valores médios do Potássio Plasmático .....	17
<b>Figura 5:</b> Representação da comparação entre o Potássio em função do pH. ....	18
<b>Figura 6:</b> Representação dos valores médios do Número de Eritrócitos .....	18
<b>Figura 7:</b> Representação dos valores médios do DPG .....	20
<b>Figura 8:</b> Representação da comparação entre o DPG em função do pH .....	20
<b>Figura 9:</b> Representação dos valores médios do pH .....	22
<b>Figura 10:</b> Representação dos valores médios da $pO_2$ .....	23
<b>Figura 11:</b> Representação dos valores médios da $pCO_2$ .....	23
<b>Figura 12:</b> Representação dos valores médios do $HCO_3^-$ .....	25

**LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 1:</b> Divisão dos momentos da avaliação laboratorial .....	10
<b>Tabela 2:</b> Escore de avaliação Morfológica .....	12
<b>Tabela 3:</b> Escore da avaliação da Anisocitose.....	12
<b>Tabela 4:</b> Valores médios e desvio padrão da Proteína Plasmática Total .....	13
<b>Tabela 5:</b> Valores médios e desvio padrão da Glicose Plasmática.....	14
<b>Tabela 6:</b> Valores médios e desvio padrão do Sódio Plasmático .....	15
<b>Tabela 7:</b> Valores médios e desvio padrão do Potássio Plasmático .....	17
<b>Tabela 8:</b> Valores médios e desvio padrão do Número de Eritrócitos .....	18
<b>Tabela 9:</b> Valores médios e desvio padrão do DPG .....	20
<b>Tabela 10:</b> Valores médios e desvio padrão do pH .....	21
<b>Tabela 11:</b> Valores médios e desvio padrão da $pO_2$ .....	22
<b>Tabela 12:</b> Valores médios e desvio padrão da $pCO_2$ .....	23
<b>Tabela 13:</b> Valores médios e desvio padrão do $HCO_3^-$ .....	25
<b>Tabela 14:</b> Comparação das variáveis Morfológicas .....	26

## RESUMO

COSTA JÚNIOR., Jair Duarte, M.Sc. Universidade Federal de Viçosa, setembro de 2006. **Avaliação do sangue total de cães armazenado em bolsas plásticas contendo CPDA-1 e CDP/SAG-M.** Orientador: José Antônio Viana. Co-orientadores: José Dantas Ribeiro Filho e Lissandro Gonçalves Conceição.

Sendo a terapia transfusional considerada uma forma de tratamento emergencial, é fundamental o desenvolvimento de tecnologias que permitam o armazenamento do sangue canino sem que se percam suas características bioquímicas e morfológicas. As preferências pelas bolsas CPDA-1, por apresentar um melhor desempenho na conservação do sangue canino. Entretanto, já é utilizada na medicina humana uma bolsa denominada CPD/SAG-M e que em estudos com outras espécies tem demonstrado superioridade sobre a primeira bolsa. Para observação da qualidade do sangue armazenado tem-se usado dosar as concentrações do Potássio Plasmático, da Glicose Plasmática, do 2,3-Difosfoglicerato (DPG), análise da Morfologia e de parâmetros hemogasométricos como a Pressão Parcial de Oxigênio, a Pressão Parcial de Dióxido de Carbono e do Bicarbonato Plasmático. Com o objetivo de avaliar e comparar as alterações bioquímicas e hematológicas do sangue total de cães armazenado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M, foram utilizados 14 cães machos, adultos e saudáveis, das raças Pit Bull e Labrador, divididos em dois grupos, dos quais foi retirado sangue para o estudo. Do primeiro grupo (G1) o sangue foi armazenado em bolsas CPDA-1 e do segundo grupo (G2) em bolsas CPD/SAG-M. As amostras foram analisadas para: Potássio Plasmático, Sódio Plasmático, Glicose Plasmática, Proteína Plasmática Total, Número de Hemácias, DPG, pH Sangüíneo, pO<sub>2</sub>, pCO<sub>2</sub>, Bicarbonato, Morfologia Celular e a presença de Anisocitose, sendo coletados para as análises laboratoriais: **D0**: imediatamente após a coleta do sangue dos animais; **D7**: sete dias após a coleta; **D14**: quatorze dias após a coleta; **D21**: vinte e um dias após a coleta; **D31**: trinta e um dias após a coleta; **D41**: quarenta e um dias após coleta. A avaliação dos resultados permitiu concluir que: A bolsa CPD/SAG-M, em relação ao DPG apresentou maior vantagem quando comparada a CPDA-1, pois O DPG, mesmo em pH inferior a 7, continuou a ser produzido por, pelo menos, uma semana após a estocagem do sangue na bolsa. As concentrações do potássio plasmático não se elevaram a níveis significativamente quando comparados com sangue humano ou equino, armazenados em período equivalente.

## ABSTRACT

COSTA JÚNIOR., Jair Duarte, M.Sc. Universidade Federal de Viçosa, September of 2006. **Evaluation of the total blood of dogs stored in plastic stock markets I contend CPDA-1 and CDP/SAG-M.** Adviser: Jose Antonio Viana. Co-adviser: Jose Dantas Ribeiro Filho and Lissandro Gonçalves Conceição.

Being the transfusional therapy considered a form of emergency treatment, is fundamental the development of technologies that allow the storage of the canine blood without losing its characteristic biochemists and morphologies. The use of bag CPDA-1 has been preferred, because it is the one that has had the better performance in the conservation of canine blood. However is already used in the medicine human a bag called CPD/SAG-M and in studies with other species it has demonstrated superiority comparing with the first bag. For observation of the quality of the stored blood it has been used to dose the concentrations of the Plasmatic Potassium, of the Plasmatic Glucose, the 2,3-Diphosphoglycerate (DPG), analysis of the Morphology and haemogasometrics parameters as the Partial Pressure of Oxygen, the Partial Pressure of Dioxide of Carbon and Plasmatic Bicarbonate. The present work had as objective to evaluate and to compare the biochemists and hematologicals alterations of the total blood of dogs stored in bags CPDA-1 and CPD/SAG-M. 14 male, adult and healthful dogs, of the races Pit Bull and Labrador, were divided in two groups, which one blood was removed for the study. For the first group (G1) the blood was stored in bag CPDA-1 and for the group (G2) in bag CPD/SAG-M. The samples were analyzed for: Plasmatic Potassium, Plasmatic Sodium, Plasmatic Glucose, Total Plasmatic Protein, Number of Red Blood Cells, DPG, pH Sanguine, pO<sub>2</sub>, pCO<sub>2</sub>, Bicarbonate, Cellular Morphology and the presence of Anisocytosis. The established moments for the laboratory analyses were: **D0**: immediately after the collection of blood of the animals; **D7**: seven days after the collection; **D14**: fourteen days after the collection; **D21**: twenty and one days after the collection; **D31**: thirty and one days after the collection; **D41**: forty and one days after collect. The evaluation of the results allowed to conclude that: The bag CPD/SAG-M presented greater advantage when compared with the CPDA-1. The DPG, even with pH lower then 7, continues being produced for, at least, one week after the stocking of the blood in the bag. The concentrations of the Plasmatic Potassium had not raised significantly the levels of blood when compared with human or equine, stored in a period equivalent.

## 1. INTRODUÇÃO

Historicamente a primeira transfusão de sangue se deu no século 15 onde o tecido sangüíneo de dois jovens foi retirado e infundido em um religioso. Posteriormente foi relatada a primeira transfusão envolvendo animais já no século 19 (KRISTENSEN e FELDMAN, 1997; SCHMIDT e LEACOCK, 2002).

O início da moderna medicina transfusional veterinária se deu na década de 50, quando o surgimento de equipamentos apropriados tornou possível a transfusão em animais (KRISTENSEN e FELDMAN, 1997).

A transfusão sangüínea, hoje considerada uma forma de terapia emergencial, é considerado uma forma de transplante, tendo em vista que se trata de um tecido transportado para outro indivíduo (NUSSBACHER, 1994; KRISTENSEN e FELDMAN, 1997; ROZANSKI e LAFORCADE, 2004). Segundo Brooks (1992), é um transplante tecidual temporário.

A terapia com componentes sangüíneos é indicada em casos de anemias graves, reposição do volume sangüíneo, restauração da capacidade de transporte de oxigênio aos tecidos e suplementação de proteína plasmática e dos componentes de coagulação do sangue (O'ROURKE, 1983; KRISTENSEN e FELDMAN, 1997; ROZANSKI e LAFORCADE, 2004; CHIARAMONTE, 2004; LUCAS *et al.*, 2004).

Embora se conheçam as técnicas de separação dos componentes sangüíneos, a terapia com sangue total ainda é uma realidade em grande parte dos centros veterinários, sendo considerada como a “viga-mestra” na terapia sangüínea nestes lugares (KRISTENSEN e FELDMAN, 1997; LUCAS *et al.*, 2004).

O sangue ou os seus componentes pode ser usado logo após a coleta ou conservado à temperatura de 1 a 6°C para uso posterior; entretanto as plaquetas, em sangue total, não permanecem viáveis por um período de 6 horas ou mais após a coleta (CHIARAMONTE, 2004). Quando o sangue conservado é transfundido supõe-se que os eritrócitos estejam viáveis, ou seja, sem alterações funcionais, morfológicas e bioquímicas (OU *et al.*, 1975), e com bom desempenho de suas funções suas funções (EISENBRANDT e SMITH, 1973). A estocagem sangüínea para transfusão é praticada em medicina humana, desde que a primeira solução preservativa, o citrato ácido dextrose (ACD) foi desenvolvida em 1943. Subseqüentemente, na área médica, muitos trabalhos têm sido realizados na tentativa de desenvolver meios para manter a viabilidade e capacidade funcional do sangue estocado por longos períodos. A

estocagem em soluções anticoagulantes objetiva manter a viabilidade e função de cada constituinte sangüíneo; prevenir alterações físicas prejudiciais nos seus componentes e evitar a proliferação bacteriana (AUTHEMENT *et al.*, 1986). A viabilidade do sangue estocado está na dependência da técnica da coleta, do anticoagulante, da temperatura de conservação, dos parâmetros bioquímicos e inclusive da freqüência de homogeneização durante o armazenamento (WILLER e RIEDESEL, 1985; AUTHEMENT *et al.*, 1986; LOPES *et al.*, 1995; HÖGMAN *et al.*, 2002).

O valor terapêutico da transfusão sangüínea para várias enfermidades é amplamente reconhecido. De fato, transfusões sangüíneas têm a mesma importância dos agentes antimicrobianos, técnicas cirúrgicas, oxigenioterapia, anestesia e outros, como um grande fator na redução da mortalidade dos animais domésticos (THORNTON, 1968).

Tendo em vista as dificuldades em manter os estoques de um banco de sangue veterinário, é imperativo o conhecimento de novas técnicas de preservação do sangue canino, com fins de prolongar o tempo de conservação destas sem comprometer a manutenção de seus parâmetros bioquímicos e morfológicos. Além disto, em medicina veterinária, poucos estudos têm sido direcionados à conservação do sangue canino para transfusão, sendo este um dos fatores limitantes no uso terapêutico do mesmo (SMITH, MAHAFFEY e BOARD, 1978; RIBEIRO FILHO *et al.*, 1993).

Em vista disto, propõe-se avaliar, quantificar e comparar os efeitos do processo de conservação sobre o sangue total de cães armazenado nas bolsas CPDA-1, comumente utilizadas no meio veterinário, em relação às bolsas CPD/SAGM, por meio de parâmetros bioquímicos e hematológicos no decorrer de 41 dias de estocagem.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

Após a implantação do primeiro banco de sangue humano, ainda na primeira metade do século 20, iniciou-se uma corrida por conhecimento para desenvolver novos componentes que assegurassem a melhor conservação do sangue estocado. Esses avanços têm sido acompanhados pela medicina veterinária que extrapola os resultados das pesquisas da hematologia humana e tenta adaptar estas novas tecnologias em benefício dos pacientes veterinários.

O objetivo primário da estocagem do sangue e seus componentes é a manutenção da viabilidade e da função de cada constituinte; a prevenção de alterações físicas prejudiciais para os componentes sangüíneos e minimizar a proliferação bacteriana (AUTHEMENT *et al.*, 1986).

A hemoglobina possui a capacidade de carrear oxigênio ( $O_2$ ) para os tecidos. A captura e liberação do  $O_2$  pela molécula de hemoglobina é controlada por um componente orgânico denominado 2,3-Difosfoglicerato (2,3-DPG ou DPG) contido nas hemácias de humanos, cães e outras espécies animais. Este ácido se liga a uma fenda na hemoglobina, denominada sub-unidade  $\beta$ , gerando a Deoxihemoglobina. Esta formação facilita a liberação do  $O_2$  para os tecidos, pois estabiliza a hemoglobina e permite que esta apresente uma baixa afinidade pelo  $O_2$ . O aumento dos níveis do DPG acionado pela hipóxia eleva a curva de dissociação da hemoglobina com o  $O_2$  permitindo uma melhor liberação deste gás aos tecidos (BUNN, 1971; EISENBRANDT e SMITH, 1973; WARDROP *et al.*, 1994; SCOTT *et al.*, 2005). Deste modo, quanto menor os níveis do DPG, maior será a afinidade da hemoglobina pelo  $O_2$ . Conseqüentemente, mais difícil será a liberação do  $O_2$  para os tecidos.

A adenosina trifosfato (ATP) é um nucleotídeo presente na célula. Este é necessário no controle do balanço eletrolítico pela bomba de sódio e potássio, na manutenção da forma celular, aumento da flexibilidade e possui uma particular ação na produção de energia (SCOTT *et al.*, 2005). Com a depleção nos seus níveis, ocorrerão alterações como perda do formato normal e aumento da fragilidade da membrana, ocasionando maior grau de hemólise, tanto durante a conservação como após a sua administração no paciente (EISENBRANT e SMITH, 1973; GUYTON e HALL, 1997; HÖGMAN *et al.*, 2002; KURUP *et al.*, 2003).

A bases da preservação do sangue pelos princípios de refrigeração se apóiam no fato de que as reações bioquímicas e moleculares são retardadas pela redução da

temperatura. Com isto é possível traçar estratégias de conservação do sangue coletado (SCOTT *et al.*, 2005).

Ao conjunto de alterações danosas sofridas pelo sangue armazenado, dá-se o nome de “lesões de conservação”. Estas são um conjunto de injúrias que minimizam a taxa de sobrevivência das células após a transfusão (CHIN-YEE *et al.*, 1997).

Com a retirada do sangue da circulação, o metabolismo das células gera uma redução do pH, principalmente devido à metabolização da glicose para lactato levando a um acúmulo de íons  $H^+$ . Com o uso da refrigeração, em torno de 1 a 6° C, estas reações bioquímicas são retardadas, possibilitando um maior período de conservação do sangue dentro das bolsas (AUTHEMENT *et al.*, 1986).

O principal fator relacionado à redução do DPG é o pH. Níveis de pH maiores de que 7,0 são tidos como propícios para a regeneração do DPG. Valores inferiores a 7,0, favorecem a degradação do DPG, contribuindo de forma significativa na deteriorização da capacidade do eritrócito em carrear  $O_2$  (HESS e GREENWALT, 2002; KURUP *et al.*, 2003).

O pH do sangue é altamente dependente da temperatura. Assim, o sangue fresco de cães coletado em citrato fosfato e dextrose (CPD) possui um pH em torno de 7,1 à temperatura de 37° C. Em refrigeração de 4° C, o pH é elevado a 7,6. Em temperaturas de 37° C, a formação do lactato a partir da glicose é por volta de duas vezes a sua produção à 20° C e três vezes mais do que à 15° C. Em função disto, as bolsas contendo sangue coletado são imediatamente depositadas em locais refrigerados para minimizar a produção destes metabólicos (WARDROP *et al.*, 1994; KURUP *et al.*, 2003). Acredita-se que algumas destas substâncias produzidas durante a estocagem do sangue são responsáveis por reações adversas na pós-transfusão. Reações que vão desde quadros inflamatórios a imunodepressões (CHIN-YEE *et al.*, 1997).

Não está muito claro, mas Hess e Greenwalt (2002) afirmaram que o pH de 6,2 representa o limite mínimo em que a célula continua a metabolizar, no sangue estocado.

O efeito de produtos com baixo pH em pacientes é desconhecido, porém, trabalhos prévios usando soluções cristalóides em cães, demonstraram nenhum efeito sobre o balanço ácido básico quando soluções com pH inferior a 5,7 foram usadas (WARDROP *et al.*, 1994).

As primeiras bolsas utilizadas em medicina veterinária para armazenar o sangue coletado foram as contendo citrato ácido e dextrose (ACD). Entretanto o sangue conservado nesta solução não era preservado por mais de três semanas (EISENBRAND

e SMITH, 1973). Com o tempo, foi observado que a suplementação de componentes nas bolsas melhoravam consideravelmente os valores bioquímicos e hematológicos do sangue armazenado. A estes suplementos deu-se o nome de Soluções Aditivas (AS). A partir daí surgiram diversas combinações de AS adicionadas ao anticoagulante das bolsas. Porém, a composição mais utilizada na medicina veterinária é a bolsa CPDA-1 (Citrato, Fosfato, Dextrose e Adenina) (WARDROP *et al.*, 1994).

O citrato é um anticoagulante que age sobre as fases cálcio-dependentes na cascata de coagulação (AUTHEMENT *et al.*, 1986). Além disto, possui um efeito de estabilização da membrana celular, de forma a facilitar o influxo de íons  $\text{HO}^-$ , promovendo uma manutenção do pH intracelular (HÖGMAN *et al.*, 2002). O fosfato, além de ser um substrato para a produção do DPG, é também componente importante no controle do pH (AUTHEMENT *et al.*, 1986; KURUP *et al.*, 2003).

A dextrose foi escolhida como fonte de energia, pois este carboidrato não é consumido rapidamente pela célula em baixas temperaturas (1 a 6° C) contribuindo, inclusive, com a manutenção de níveis adequados de ATP (AUTHEMENT *et al.*, 1986).

A hexoquinase e a fosfofrutoquinase são enzimas que participam da via glicolítica produzindo energia dentro da célula. Com a queda do pH, muito comum durante o processo de estocagem do sangue, estas enzimas são inativadas. Com isto haverá um maior consumo de ATP na tentativa de suprir as necessidades de energia (na forma de Adenosina Difosfato – ADP). Em virtude destes acontecimentos, foi preconizada a adição de adenina nas bolsas. Este processo provê um aumento do adenilato que servirá de substrato para nova síntese de ATP, aumentando as reservas deste nucleotídeo no interior das células (AUTHEMENT *et al.*, 1986; HÖGMAN *et al.*, 2002). Estudos realizados por Hess e Greenwalt (2002), demonstraram que a adição de adenina e fosfato eleva os níveis de ATP, mas não impedem o declínio posterior deste nucleotídeo nas semanas seguintes.

Além das bolsas contendo CPDA-1, na medicina também são usadas bolsas contendo citrato, fosfato e dextrose acrescido (solução aditiva) de adenina, glicose e manitol diluídos em solução salina (SAG-M). Esta solução aditiva (SA) presente nas bolsas CPD/SAG-M possui concentrações diferentes dos compostos das bolsas CPDA-1 e acrescida do manitol. Esta última substância apresenta a capacidade de estabilizar a membrana celular, promovendo impermeabilização a íons como o cloreto ( $\text{Cl}^-$ ), mantendo níveis altos do pH intracelular e reduzindo a taxa de hemólise (HESS e GREENWALT, 2002; HÖGMAN *et al.*, 2002).

Bolsas de polyvinyl chloride (PVC) recobertas com plástico 2-diethylhexyl phthalate (DEHP) que compõe as bolsas (PL 146) têm-se mostrado efetivas na redução da hemólise e nas perdas pela membrana durante a estocagem (HESS e GREENWALT, 2002; SCOTT *et al.*, 2005). Além disto, possui propriedades especiais de permeabilidade ao CO<sub>2</sub>. Durante a estocagem do sangue, a glicose consumida para produzir ATP gera uma série de metabólitos, dentre eles o lactato e prótons. Estes componentes, na presença da anidrase carbônica dos eritrócitos, são convertidos em água e CO<sub>2</sub>. O dióxido de carbono difunde-se para fora da bolsa prevenindo a reversão da reação (HESS E GREENWALT, 2002). Segundo Högman *et al.* (2002), este plástico é permeável apenas ao CO<sub>2</sub>, sendo pobremente transpassado por outros gases.

Concentrações excessivas de CO<sub>2</sub> devem ser controladas, pois este gás compete com o DPG pelo sítio de ligação na hemoglobina. Quando o DPG não está ligado à hemoglobina, este fica sujeito à degradação (HÖGMAN *et al.*, 2002).

Segundo d'Almeida *et al.* (2000), em estudos realizados com sangue humano e de ratos, os níveis de DPG declinaram cerca de 17% e 18% respectivamente, já na primeira semana de estocagem em bolsas CPDA-1.

Após serem infundidos no paciente, eritrócitos mantidos em soluções conservadoras, têm a capacidade de retornar à síntese do DPG. Esta recuperação atinge valores até 50% nas primeiras cinco horas após a transfusão. Entretanto, para que haja recuperação total dos valores do DPG, são necessárias 24 a 48 horas após a infusão sangüínea. Por isso, o uso de sangue armazenado por muito tempo em pacientes críticos deve ser repensado, pois este material não transportará adequadamente O<sub>2</sub> para os tecidos, sendo necessárias muitas transfusões (WARDROP *et al.*, 1994; SCOTT *et al.*, 2005). Além disto, segundo Kristensen e Feldman (1997), em pacientes enfermos, o tempo de recuperação do DPG é superior ao período mencionado de 24 a 48 horas.

Segundo Althement e colaboradores (1986), o sangue canino pode ser armazenado por até 35 dias em bolsas CPDA-1 e até 21 dias em bolsas contendo ACD. Esta informação não é totalmente confirmada por Wardrop e colaboradores (1994) que explicaram que após o período de 21 dias, os níveis de DPG caem. Mesmo sendo as células capazes de renovar os níveis de DPG após transfusão, este processo levaria em torno de 24 horas, o que impossibilita seu uso em pacientes críticos que necessitam de uma imediata melhora na taxa de oxigenação. Por esta razão, Kristensen e Feldman (1997) recomendaram o uso de sangue canino armazenado por até 14 a 21 dias ou sangue fresco.

Devido à alta concentração de dextrose, valores elevados de glicose são encontrados no sobrenadante das bolsas de sangue. Tais níveis são reduzidos à medida que há um consumo deste carboidrato pelas células, no decorrer da estocagem (WARDROP *et al.*, 1994).

A taxa de hemólise é um notado marcador da falha no sistema de estocagem do sangue. Esta pode se dar sob a forma de ruptura da célula por completo ou pela liberação da hemoglobina contida nas microvesículas formadas durante a estocagem, mantendo a superfície celular intacta (HESS e GREENWALT, 2002).

A infusão intravenosa de soluções contendo hemoglobina ou componentes hemolisados tem demonstrado efeitos adversos sobre a função renal e o sistema de coagulação (WARDROP *et al.*, 1994).

A redução dos níveis de ATP levam a injúrias físicas na membrana gerando formações de agregados citoplasmáticos, esferocitose progressiva, endocitoses anormais das células vermelhas, redução do tamanho e o surgimento de microvesículas. (WARDROP *et al.*, 1994; SCOTT *et al.*, 2005). A diminuição dos valores do ATP está intimamente relacionada com taxa de sobrevivência celular após a transfusão no paciente (SCOTT *et al.*, 2005).

Mudanças em vias metabólicas dos eritrócitos ocasionam alterações no esqueleto citoplasmático. Estas mudanças afetam diretamente a flexibilidade celular, conseqüentemente elevando as taxas de eliminação pelo sistema fagocítico macrocitário (SFM) (SCOTT *et al.*, 2005). A redução da flexibilidade está intimamente relacionada com a redução dos níveis do ATP (KORTE E VERHOEVEN, 2004)

Segundo Korte e Verhoeven (2004), uma morfologia adequada é interessante, mas não necessária para assegurar a qualidade do eritrócito. Isto se dá, provavelmente, pela recuperação do formato normal das células vermelhas quando ressuspendidas em plasma, como demonstrado *in vitro* por estes autores.

Assim como a hemoglobina, o aumento do nível do potássio extracelular indica um dos primeiros eventos que se relacionam com a piora da qualidade das células vermelhas (KORTE E VERHOEVEN, 2004).

O potássio é um íon presente principalmente no fluido intracelular (FIC). Apenas 2% do potássio orgânico está presente no fluido extracelular (FEC). Já o sódio apresenta maiores concentrações no FEC. Este equilíbrio é mantido, principalmente pela “bomba de sódio e potássio” da membrana plasmática que é diretamente influenciado

por baixos valores do pH que por sua vez, pode levar a uma migração do potássio contido no FIC para o FEC (MEYER *et al.*, 1995; BUSH, 2004).

Quando comparada com a espécie humana e outras espécies animais, a concentração de potássio no FIC em cães é muito menor, por isto, os níveis de potássio no FEC apresentarão valores menores do que aqueles vistos, por exemplo, em amostras de sangue eqüino analisadas após algumas horas. Conseqüentemente, espera-se que os níveis plasmáticos do potássio não sofram elevações como as que ocorrem com sangue humano, eqüino ou em outras espécies (KERR, 2003; KORTE e VERHOEVEN, 2004). Em amostras de sangue canino coletados sem solução aditiva (SA), após 24 horas de armazenamento, os níveis de potássio não excederam 1 mEq/L (ou mmol/L) a mais que o valor mensurado imediatamente após a coleta (KERR, 2003).

Após a transfusão do sangue no paciente, as células são capazes de restaurar o gradiente de concentração dos íons potássio e sódio (KORTE e VERHOEVEN, 2004).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi submetido à aprovação da comissão de ética do departamento de veterinária da Universidade Federal de Viçosa, estando protocolado com o número.

#### 3.1 Local

A coleta do sangue, a estocagem e os exames laboratoriais foram realizados no Hospital Veterinário do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa – Viçosa (MG), no período de março a junho de 2006.

#### 3.2 Coleta das Amostras

O procedimento de coleta foi realizado na sala de fluidoterapia do Hospital Veterinário, sobre uma mesa de aço inoxidável, posicionando os animais em decúbito lateral.

A contenção foi manual e executada por dois auxiliares. A venipunção foi feita na veia jugular, posicionando a agulha caudocranialmente, após a depilação e anti-sepsia com solução de álcool 70%.

Foi utilizado sangue de 14 cães adultos, machos, das raças Pit Bull e Labrador, divididos em dois grupos, contendo 7 indivíduos cada um.

Os animais possuíam peso de 25 a 35 kg, de comportamento dócil, em boas condições de saúde, verificados pelo exame físico, hemograma, pesquisa de hematozoários e parasitológico de fezes. Esses animais tinham hematócrito de 35 a 40% e de proprietários residentes na cidade de Viçosa (MG).

O sangue coletado foi estocado segundo a seguinte determinação:

**Grupo 1 (G1):** Sangue conservado em bolsas contendo citrato fosfato dextrose e adenina (CPDA-1<sup>1</sup>), totalizando um volume aproximado de 500mL de volume total em cada bolsa, armazenadas sob refrigeração à temperatura de 4° a 6° C. Não foi separado o plasma do concentrado de hemácias.

**Grupo 2 (G2):** Sangue conservado em bolsas contendo citrato fosfato e dextrose na bolsa primária tendo como solução aditiva, adenina glicose e manitol em solução salina (CPD/SAGM<sup>2</sup>). Instantes antes da coleta do sangue, o conteúdo da bolsa satélite (contendo a solução aditiva), foi transportado,

---

<sup>1</sup> Bolsas plásticas triplas CPDA-1, para coleta de sangue – Fresenius hemocare.

<sup>2</sup> Bolsas plásticas triplas CPD/SAG-M, para coleta de sangue – Fresenius hemocare.

aspticamente para a bolsa primária. Após este procedimento foi coletado o sangue totalizando um volume aproximado de 500mL em cada bolsa. A conservação se deu sob refrigeração de 4° a 6° C. Desta forma não foi separado plasma do concentrado de hemácias.

### 3.3 Momentos das Avaliações Laboratoriais

A avaliação laboratorial do sangue total coletado e armazenado foi realizada em seis momentos diferentes como demonstrado na Tabela 1:

**Tabela 1.** Momentos da avaliação laboratorial das amostras sanguíneas de 14 cães dos Grupos 1 e 2.

<b>Momentos</b>	<b>Tempo das avaliações laboratoriais</b>
Dia 0 (D 0)	Imediatamente após a coleta
Dia 7 (D 7)	7 dias após a coleta
Dia 14 (D 14)	14 dias após a coleta
Dia 21 (D 21)	21 dias após a coleta
Dia 31 (D 31)	31 dias após a coleta
Dia 41 (D 41)	41 dias após a coleta

### 3.4 Avaliação Laboratorial

Antes da avaliação das amostras, foi realizada a homogeneização do sangue contido nas bolsas, seguida da retirada asséptica de 15mL de sangue para a mensuração das variáveis bioquímicas, da contagem de hemácias e preparação do esfregaço para análise morfológica das células.

Para a análise do 2,3- Difosfoglicerato (DPG) foram utilizados 5mL do sangue retirado das bolsas de ambos os grupos e centrifugado para a obtenção de 1mL de concentrado de hemácias. A partir daí, as amostras foram submetidas à desproteinização pelo ácido perclórico 0,6 M e neutralizadas com carbonato de potássio 2,5 M. Na seqüência, foi realizada a centrifugação para separar o sobrenadante, este utilizado nas reações bioquímicas que determinaram os valores do DPG. Foi utilizado o Kit comercial para análise do DPG<sup>3</sup> por espectrofotometria em luz ultravioleta.

Para a mensuração da glicose, foi utilizado o sobrenadante (plasma) oriundo da centrifugação do sangue para os testes do DPG. Esta amostra foi diluída na proporção de 1:9 (50µL do plasma adicionado a 450µL de água destilada). A partir desta diluição

<sup>3</sup> Roche Diagnostics – Germany / 30 determinações – UV.

foram realizados os testes. A glicose foi mensurada pelo kit enzimático comercial<sup>4</sup> por espectrofotometria colorimétrica<sup>5</sup> para medições de glicose plasmática. Esta diluição foi necessária, pois os valores extrapolaram a curva de leitura do aparelho. Portanto, o valor obtido ao final das reações foi multiplicado por 10 para a obtenção do valor real.

Para as medições do potássio e sódio plasmáticos, foi realizada inicialmente uma diluição de 1:79 (50µL do plasma em 3950µL de água deionizada). Posteriormente foi realizada leitura em aparelho de fotometria de chama<sup>6</sup> que promovia a leitura concomitante do potássio e sódio em mEq/L. O valor do sódio era multiplicado por 2 para obtenção do valor real. Para a calibração do aparelho foi utilizado o Padrão<sup>7</sup>, cujas concentrações de potássio e sódio eram, respectivamente, 5 mEq/L e 70 mEq/L.

As mensurações do pH, da pressão parcial de oxigênio (PO<sub>2</sub>), pressão parcial de dióxido de carbono (PCO<sub>2</sub>) e bicarbonato (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) foram realizadas através de aparelho de hemogasometria<sup>8</sup>.

A medição da proteína total se deu retirando 50 µL do plasma a partir das alíquotas retiradas das bolsas de ambos os grupos e lidas em aparelho de Refratometria<sup>9</sup>.

A contagem das células vermelhas foi realizada com sangue total coletado das bolsas de ambos os grupos e diluídas e solução de Hayem na proporção de 1:200 (20 µL de sangue total em 4 mL de solução de Hayem) e contadas na câmara de Neubauer<sup>10</sup>.

A avaliação morfológica das hemácias foi realizada por esfregaço de sangue total retirado a partir do sangue coletado das bolsas de ambos os grupos e coradas pelo método de panótipo rápido. Na leitura foi observado anisocitose, formação de microvesículas e presença de equinocitose. O escore para esta avaliação estão nas Tabelas 02 e 03.

---

<sup>4</sup> Glicose Enzimática GOD-RAP Cristal - 500 testes K. 054 – BIOCLIN.

<sup>5</sup> Espectrofotômetro – Fc – 130 – CELM.

<sup>6</sup> Fotômetro de Chama Micronel – B 462.

<sup>7</sup> Padrão para análise de Sódio e Potássio por Fotometria de Chama – Laboratório CELM.

<sup>8</sup> Gasômetro ABL 5 – Radiometer / Copen Hagen.

<sup>9</sup> Refratômetro: Atago, Hand Refractometer, Mod. Uricon cat nº. 135.

<sup>10</sup> Contagem em câmara de Neubauer segundo Jain (1986).

**Tabela 2.** Escore de avaliação morfológica das hemácias no esfregaço sanguíneo de 14 cães segundo presença ou ausência de microvesículas e equinocitose.

<b>Característica</b>	<b>Escore</b>
Ausência de equinócitos e microvesículas nas hemácias	1
Ausência de equinócitos e microvesículas em < 50% das hemácias	2
Ausência de equinócitos e microvesículas em > 50% das hemácias	3
Ausência de microvesículas e equinócitos em > 50% das hemácias	4
Ausência de microvesículas e equinócitos em < 50% das hemácias	5
Microvesículas em < 50% e equinócitos em < 50% das hemácias	6
Microvesículas em > 50% e equinócitos em < 50% das hemácias	7
Microvesículas em < 50% e equinócitos em > 50% das hemácias	8
Microvesículas em > 50% e equinócitos em > 50% das hemácias	9

**Tabela 3.** Escore da avaliação da Anisocitose dos eritrócitos no esfregaço sanguíneo.

	<b>Ausente</b>	<b>Presente</b>
<b>Anisocitose</b>	0	1

### 3.5 Análise Estatística

A avaliação estatística foi realizada ao término da coleta dos dados experimentais e analisada através do programa estatístico GraphPad InStat<sup>11</sup>, utilizando-se para os dados paramétricos a análise de variância (ANOVA). Posteriormente os dados que passaram pelas premissas da análise de variância, foram submetidos ao teste de Tukey, com grau de significância de 5% ( $p < 0,05$ ), que avaliou o comportamento das variáveis no decorrer do tempo.

Para a comparação entre grupos, foi realizado o teste t de Student com grau de significância de 5% ( $p < 0,05$ ).

Para os dados não paramétricos, foi utilizado o teste de Spearman para a análise da correlação entre as variáveis e posteriormente o teste de Wilcoxon para determinação do comportamento no tempo. Ambos com grau de significância de 5% ( $p < 0,05$ ).

<sup>11</sup> GraphPad InStat 3.00 para Windows 98 – GraphPad Software, [www.graphpad.com](http://www.graphpad.com).

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com o posicionamento da agulha caudo-cranialmente na veia jugular o processo de coleta do sangue foi rápido, perfazendo um total de 5 a 7 minutos em média para todas as coletas. Estes resultados são melhores que os encontrados por Oliveira (1998), que realizando a punção na veia safena lateral de cães, necessitou de 21 minutos, em média, para preencher a bolsa. Provavelmente com a agulha direcionada contra o fluxo sanguíneo, somado à punção em um vaso de maior calibre, houve maior entrada de sangue em um menor tempo.

##### 4.1 Proteína plasmática total

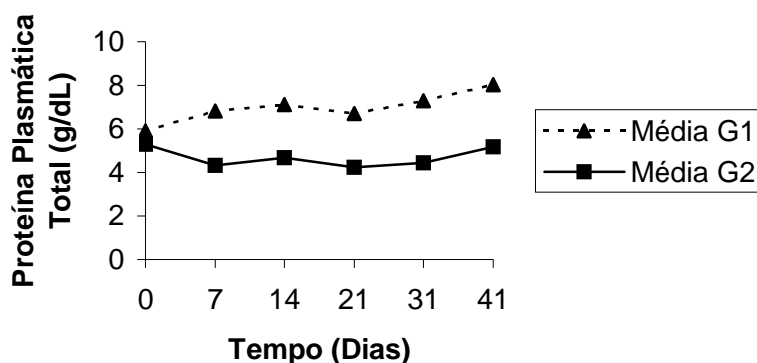
Não houve, em cada grupo, variações significativas ( $p > 0,05$ ) na proteína plasmática total no período do estudo. Entretanto houve significância ( $p < 0,05$ ) na comparação entre os dois grupos, com o Grupo 1 (G1) apresentando médias superiores às encontradas nos do Grupo 2 (G2) (Tabela 4 e Figura 1). Este fenômeno se deu, provavelmente, pela diluição ocorrida no sangue contido nas bolsas do G2 pela solução aditiva (SA), não existente nas bolsas do G1.

Pode-se notar um melhor desempenho do G2, pois, mesmo não havendo diferenças significativas entre os dias 0 e o 41 do G1, analisando o Coeficiente de Variação do 41º dia ( $CV = 10\%$  para o G1 e o G2), é possível sugerir que houve uma melhor preservação dos eritrócitos no G2, uma vez que o aumento da variável proteína plasmática indicaria uma maior perda de componentes intracelulares.

**Tabela 4.** Valores médios (X) e desvio padrão (s) da proteína plasmática total (g/dl) do sangue de 14 cães armazenado nas bolsas do G1 e G2, nos momentos (D) analisados.

Grupos		D 0	D 7	D 14	D 21	D 31	D 41
G1	X	5,9 <sup>Aa</sup>	6,8 <sup>Aa</sup>	7,1 <sup>Aa</sup>	6,7 <sup>Aa</sup>	7,3 <sup>Aa</sup>	8,0 <sup>Aa</sup>
	S	1,70	0,96	1,02	0,92	1,06	0,83
G2	X	5,3 <sup>Aa</sup>	4,3 <sup>Ba</sup>	4,7 <sup>Ba</sup>	4,2 <sup>Ba</sup>	4,4 <sup>Ba</sup>	5,2 <sup>Ba</sup>
	S	1,26	0,59	0,54	0,46	0,51	0,54

Médias seguidas de letras iguais minúsculas na linha, não diferem entre si, segundo o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Médias acompanhadas de letras iguais maiúsculas na coluna não diferem entre si, segundo teste t de Student ( $p < 0,05$ ).



**Figura 1.** Representação dos valores médios da proteína plasmática total (g/dl) do sangue armazenado nas bolsas dos G1 e G2, nos momentos (dias) analisados.

#### 4.2 Glicose plasmática

No G1 houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as médias no decorrer dos dias de análise. Porém, no G2 não houve diferenças significativas ( $P > 0,05$ ) entre as médias nos dias analisados (Tabela 5 e Figura 2).

Existiram diferenças significativas quando comparadas as médias entre os grupos, particularmente, observou-se uma diferença ( $p < 0,01$ ) entre G1 e G2 no 41º dia.

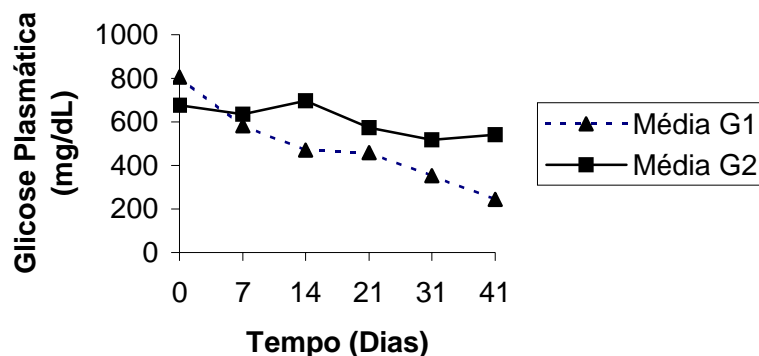
A redução das concentrações da glicose apresentada pelo G1 também foi observada por Wardrop *et al.* (1994), em estudos de conservação do sangue canino em bolsas CPDA-1.

Na comparação entre o D0 e o D41 em cada grupo, o G2 demonstrou menor redução da glicose ao final do período. Esta superioridade das bolsas do G2 pode ser atribuída à melhor conservação do ATP, pois segundo Authenment *et al.* (1986) e Högman *et al.* (2002), com a queda do pH e um maior consumo da glicose celular, este nucleotídeo é consumido na tentativa de manter as reservas de energia da célula. Portanto, melhores níveis de ATP, representam um menor consumo da glicose celular.

**Tabela 5.** Valores médios (X) e desvio padrão (S) da glicose plasmática (mg/dl) do sangue de 14 cães armazenado nas bolsas do G1 e G2, nos momentos (D) analisados.

Grupos		D 0	D 7	D 14	D 21	D 31	D 41
G1	X	805,8 <sup>Aa</sup>	581,8 <sup>Aab</sup>	470,2 <sup>Abc</sup>	459 <sup>Abc</sup>	352,5 <sup>Abc</sup>	242,8 <sup>Ac</sup>
	S	121,0	118,2	170,1	197,5	189,6	141,8
G2	X	675,3 <sup>Aa</sup>	635,6 <sup>Aa</sup>	695,7 <sup>Ba</sup>	574,0 <sup>Aa</sup>	516,9 <sup>Aa</sup>	542,4 <sup>Ba</sup>
	S	95,2	100,2	89,4	178,3	69,1	175,1

Médias seguidas de letras iguais minúsculas na linha, não diferem entre si, segundo o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Médias acompanhadas de letras iguais maiúsculas na coluna não diferem entre si, segundo teste t de Student ( $p < 0,05$ ).



**Figura 2.** Representação dos valores médios da glicose plasmática (mg/dl) do sangue armazenado nas bolsas dos G1 e G2, nos momentos (dias) analisados.

### 4.3 Sódio plasmático

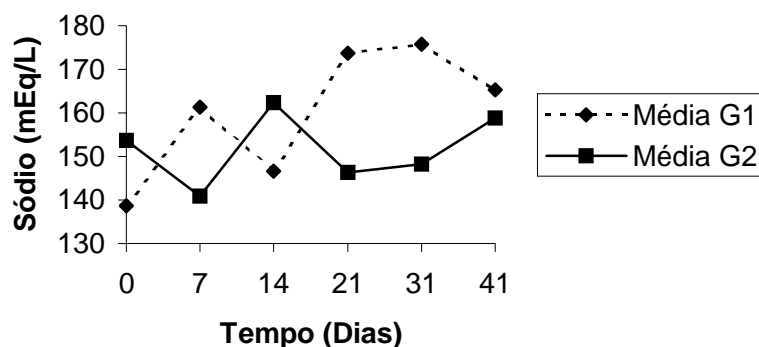
O G1 não apresentou diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) entre os momentos das análises. Entretanto, na observação do G2, foram encontradas diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) somente entre os dias 7 e 14. Porém, no 41º dia de análise, os níveis do sódio no G2 foram, estatisticamente, os mesmos encontrados no 1º dia. Na análise entre grupos, houve diferenças significativas apenas entre os dias 21 e 31 (Tabela 6 e Figura 3).

Sabendo que o sódio é um eletrólito extracelular, pode-se concluir que não houve perda de água para o exterior das bolsas, pois, desta forma, haveria um aumento na concentração deste íon. Estes dados corroboram os achados de Hess e Greenwalt (2002) quando afirmaram que o plástico das bolsas permite a saída apenas do  $\text{CO}_2$ .

**Tabela 6.** Valores médios (X) e desvio padrão (S) do sódio plasmático (mEq/L) do sangue de 14 cães armazenado nas bolsas do G1 e G2, nos momentos (D) analisados.

Grupos		D 0	D 7	D 14	D 21	D 31	D 41
G1	X	138,7 <sup>Aa</sup>	161,3 <sup>Aa</sup>	146,7 <sup>Aa</sup>	173,7 <sup>Aa</sup>	175,7 <sup>Aa</sup>	165,3 <sup>Aa</sup>
	S	38,0	24,7	37,6	10,2	5,4	28,5
G2	X	153,7 <sup>Aab</sup>	140,9 <sup>Ab</sup>	162,3 <sup>Aa</sup>	146,3 <sup>Bab</sup>	148,3 <sup>Bab</sup>	158,9 <sup>Aab</sup>
	S	95,2	100,2	89,4	178,3	69,1	175,1

Médias seguidas de letras iguais minúsculas na linha, não diferem entre si, segundo o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Médias acompanhadas de letras iguais maiúsculas na coluna não diferem entre si, segundo teste t de Student ( $p < 0,05$ ).



**Figura 3.** Representação dos valores médios do sódio plasmático (mEq/L) do sangue armazenado nas bolsas dos G1 e G2, nos momentos (dias) analisados.

#### 4.4 Potássio plasmático

Na análise dos momentos, houve um acréscimo significativo ( $p < 0,05$ ) nos níveis de potássio de ambos os grupos. Na comparação entre grupos, também foi observada diferença significativa ( $p < 0,05$ ) (Tabela 7 e Figura 4).

Por ser um íon intracelular, o aumento nos níveis do potássio extracelular representa uma redução na capacidade da membrana em manter as concentrações de potássio no meio intracelular, ou até mesmo, indicar hemólise.

Observando os dados é possível constatar um melhor desempenho do G2 sobre o G1, sugerindo uma melhor preservação da membrana plasmática, podendo, inclusive, ser um indicador indireto dos níveis de ATP. Esse nucleotídeo está intimamente relacionado à membrana plasmática, sendo, também, responsável pelo equilíbrio eletrolítico da célula.

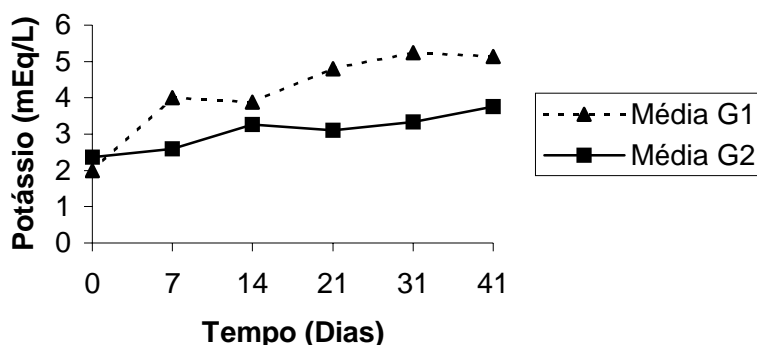
A variação entre as médias do dia 0 e do dia 41, em ambos os grupos, confirma as conclusões de Kerr (2003) e de Korte e Verhoeven (2004) quando afirmaram que em cães os níveis intracelulares do potássio são menores quando comparado com outras espécies, e sua concentração plasmática não se elevaria na mesma proporção que a observada em equinos e humanos. Kurup *et al.* (2003), em estudo com sangue humano encontraram níveis de potássio plasmático, no 28º dia, em torno de 43 e 61 mEq/L nas bolsas CPD e SAG-M respectivamente.

Provavelmente em função da diluição do sangue na solução aditiva contida nas bolsas, o potássio plasmático tenha apresentado valores inferiores aos fisiológicos no dia 0.

**Tabela 7.** Valores médios (X) e desvio padrão (S) do potássio plasmático (mEq/L) do sangue de 14 cães armazenado nas bolsas do G1 e G2, nos momentos (D) analisados.

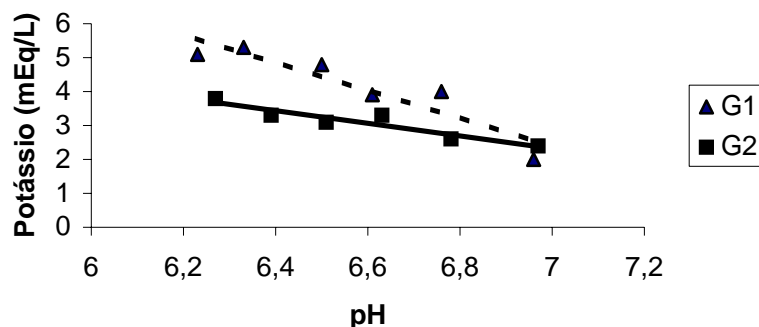
Grupos		D 0	D 7	D 14	D 21	D 31	D 41
G1	X	2,0 <sup>Ab</sup>	4,0 <sup>Aa</sup>	3,9 <sup>Aa</sup>	4,8 <sup>Aa</sup>	5,3 <sup>Aa</sup>	5,1 <sup>Aa</sup>
	S	0,8	0,8	0,9	0,4	0,6	1,0
G2	X	2,4 <sup>Ad</sup>	2,6 <sup>Bcd</sup>	3,3 <sup>Aabc</sup>	3,1 <sup>Babc</sup>	3,3 <sup>Bab</sup>	3,8 <sup>Ba</sup>
	S	0,4	0,5	0,3	0,4	0,5	0,5

Médias seguidas de letras iguais minúsculas na linha, não diferem entre si, segundo o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Médias acompanhadas de letras iguais maiúsculas na coluna não diferem entre si, segundo teste t de Student ( $p < 0,05$ ).



**Figura 4.** Representação dos valores médios do potássio plasmático (mEq/L) do sangue armazenado nas bolsas dos G1 e G2, nos momentos (dias) analisados.

Feita a correlação entre as médias do potássio em função do pH para o G1 e G2 respectivamente, observou-se uma significância nas comparações ( $p < 0,01$ ) apresentando uma forte correlação para G1 ( $r = -0,92449$ ) e G2 ( $r = -0,9375$ ), resultando em um alto coeficiente de correlação para estes grupos (Figura 5). Desta forma, pode-se dizer que os valores do potássio plasmático são inversamente proporcionais aos valores do pH sanguíneo. Confirmado pelos achados que mostraram que a elevação do potássio extracelular em 85% no G1 e 88% no G2, é explicada pela queda do pH. Estes achados concordam com as afirmações de Bush (2004), quando disse que a membrana plasmática é diretamente influenciada pela redução do pH, influenciando, desta forma, na migração do potássio contido no fluido intracelular para o meio extracelular.



**Figura 5.** Representação gráfica da comparação entre a variável potássio plasmático em função do pH. Observar que existe uma tendência no aumento nos níveis do potássio à medida que há uma queda no pH.

#### 4.5 Número de eritrócitos

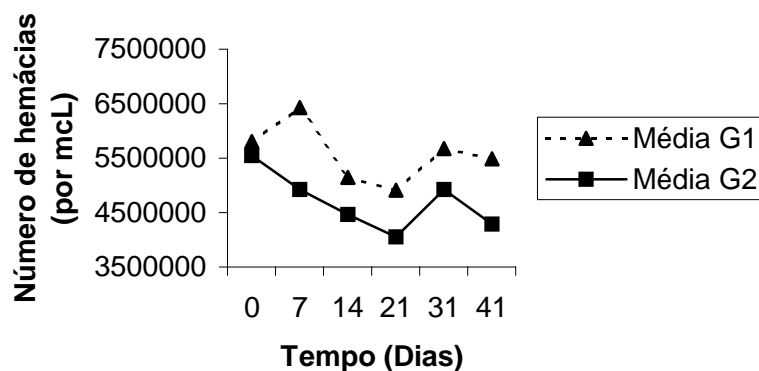
Estatisticamente não houve diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) para o número de eritrócitos em ambos os grupos durante o tempo. Na comparação entre o G1 e o G2, houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) apenas no 7º dia de análise (Tabela 8 e Figura 6).

Embora tenha sido observada uma coloração avermelhada do plasma durante os dias das análises em ambos os grupos, sugerindo hemólise, a redução do número de hemácias nas bolsas, especialmente nas do G2, não foi considerada significativa.

**Tabela 8.** Valores médios (X) e desvio padrão (S) do número de eritrócitos por  $\mu\text{L}$ , do sangue de 14 cães armazenado nas bolsas do G1 e G2, nos momentos (D) analisados.

Grupos		D 0	D 7	D 14	D 21	D 31	D 41
G1	X	5803333 <sup>Aa</sup>	6428333 <sup>Aa</sup>	5151667 <sup>Aa</sup>	4911667 <sup>Aa</sup>	5673333 <sup>Aa</sup>	5485000 <sup>Aa</sup>
	S	1220273	1718481	1187155	1169571	1431722	1143132
G2	X	5547143 <sup>Aa</sup>	4925714 <sup>Ba</sup>	4461429 <sup>Aa</sup>	4057143 <sup>Aa</sup>	4928571 <sup>Aa</sup>	4292857 <sup>Aa</sup>
	S	766827	1390190	1186528	503677	792999,1	553676

Médias seguidas de letras iguais minúsculas na linha, não diferem entre si, segundo o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Médias acompanhadas de letras iguais maiúsculas na coluna não diferem entre si, segundo teste t de Student ( $p < 0,05$ ).



**Figura 6.** Representação dos valores médios do Número de Hemácias por  $\mu\text{L}$  no G1 e G2, nos momentos.

#### 4.6 2,3-Difosfoglicerato (2,3-DPG ou DPG)

Houve diferença significativa ( $p < 0,01$ ) na avaliação do comportamento da variável DPG no decorrer do tempo em ambos os grupos. Entretanto, não foi encontrada diferença significativa ( $p > 0,05$ ) quando a comparação foi entre os grupos (Tabela 9 e Figura 7).

Foi observado um aumento significativo ( $p < 0,05$ ) nos níveis do DPG no dia 7 de ambos os grupos. Estes resultados contrariam os achados por Eisenbrandt e Smith (1973), Smith *et al.* (1978), quando estudaram o comportamento bioquímico do sangue canino armazenado em solução de ácido cítrico e dextrose e das observações feitas por D'Almeida *et al.* (2000), em sangue humano e de ratos conservados em bolsas CPDA-1.

A explicação para o aumento nos níveis do DPG após o dia 0, alcançando picos no 7º dia, em ambos os grupos, pode estar no fato de que as soluções conservantes das bolsas já possuem altos níveis de adenina, energia (na forma de dextrose) e fosfato. Segundo Scott *et al.* (2005), o fosfato é substrato para a produção de mais DPG.

Embora Wardrop *et al.* (1994), Hess e Greenwalt (2002) e Kurup *et al.* (2003) tenham observado em seus estudos que existe uma tendência no colapso na produção de DPG em valores de pH inferiores a 7, neste estudo foi observado um aumento do DPG entre os dias 0 e 7, com níveis do pH abaixo de 7 em ambos os grupos. Porém, após este período, houve uma queda contínua dos valores do DPG.

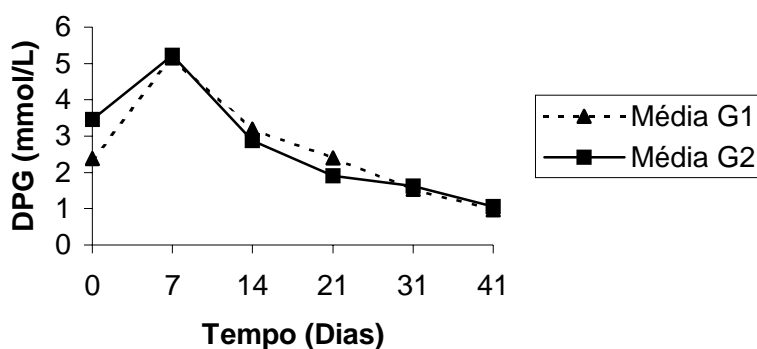
Como citado por D'Almeida *et al.* (2000), o sangue de diferentes espécies, quando expostos aos mesmos tipos de conservação, podem apresentar diferenças no comportamento dos parâmetros bioquímicos e hematológicos. Com isto é plausível a diferença observada com o sangue canino em comparação a outras espécies.

Em análise de correlação entre a variável DPG em função do pH, somente o G2 apresentou correlação significativa ( $p < 0,05$ ), demonstrando um coeficiente de determinação de 67% ( $r = 0,8172$ ). Porém, analisando-se a correlação entre estas variáveis a partir do pico de produção do DPG, ocorrido até o 7º dia, existe uma correlação significativa ( $p < 0,05$ ) e um coeficiente de determinação alto entre a variável DPG em função do pH para ambos os grupos ( $r = 0,97$  para G1 e  $r = 0,94$  para G2). Desta forma, a redução do DPG é explicada em 95% e 88% pelo decréscimo do pH para o G1 e G2 respectivamente, a partir do 7º dia (Figura 8).

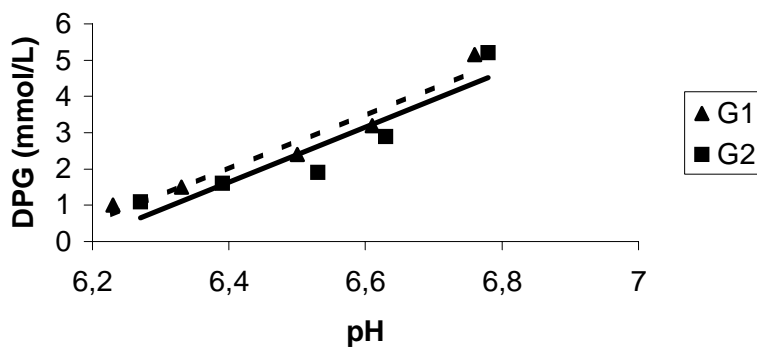
**Tabela 9.** Valores médios (X) e desvio padrão (S) do 2,3-difosfoglicerato (mmol/L) do sangue de 14 cães armazenado nas bolsas do G1 e G2, nos momentos (D) analisados.

Grupos		D 0	D 7	D 14	D 21	D 31	D 41
G1	X	2,4 <sup>Abc</sup>	5,5 <sup>Aa</sup>	3,2 <sup>Ab</sup>	2,4 <sup>Abc</sup>	1,5 <sup>Accd</sup>	0,9 <sup>Ad</sup>
	S	0,8	0,8	0,4	0,8	0,6	0,4
G2	X	3,5 <sup>Ab</sup>	5,2 <sup>Aa</sup>	2,9 <sup>Abc</sup>	1,9 <sup>Accd</sup>	1,6 <sup>Accd</sup>	1,1 <sup>Ad</sup>
	S	1,8	0,3	0,7	0,8	0,8	0,6

Médias seguidas de letras iguais minúsculas na linha, não diferem entre si, segundo o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Médias acompanhadas de letras iguais maiúsculas na coluna não diferem entre si, segundo teste t de Student ( $p < 0,05$ ).



**Figura 7.** Representação dos valores médios do DPG (mmol/L) do sangue armazenado nas bolsas dos G1 e G2, nos momentos (dias) analisados.



**Figura 8.** Representação gráfica da comparação entre a variável DPG em função do pH a partir do 7º dia. Observar que existe uma tendência na redução nos níveis do DPG à medida que há uma queda no pH.

#### 4.7 pH

Na análise do pH, foi encontrada diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre as médias de cada grupo durante o tempo do estudo. Entretanto, não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) na comparação entre os grupos (Tabela 10 e Figura 9).

Os valores para o pH no dia zero também foram encontrados por Wardrop *et al.* (1994) em bolsas CDPA-1 com sangue canino, onde obteve uma média 6,98 no pH. Entretanto estes dados não corroboram aos fornecidos por Kurup *et al.* (2003) em seu trabalho com sangue humano, onde, no dia zero, obtiveram valores em torno de 7,38 para bolsas CPDA-1 e 7,33 para bolsas CPD/SAG-M.

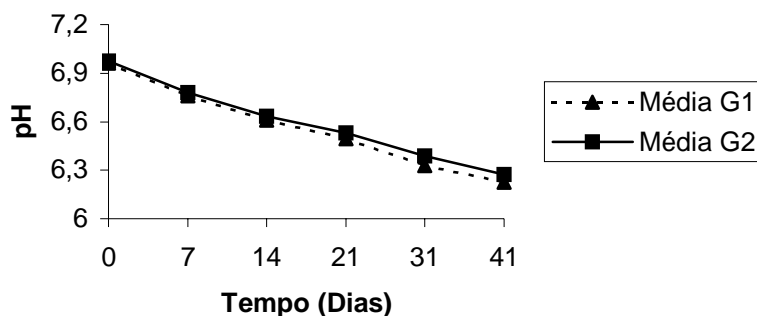
O decréscimo do pH logo no primeiro dia confirma os achados de Ribeiro Filho *et al.* (1994) e Hess *et al.* (2002) quando observaram que o pH das soluções contidas nas bolsas é ácido. Desta forma, é capaz de reduzir o pH do sangue ainda no primeiro dia de armazenamento. Segundo Ribeiro Filho *et al.* (1994), a queda do pH durante o tempo de análise se dá, possivelmente, pelos metabólitos ácidos provenientes do metabolismo anaeróbico dos eritrócitos durante a conservação.

Segundo Kurup *et al.* (2003), a redução do pH promove um aumento da taxa de degradação do DPG e uma redução na produção do mesmo, prejudicando, desta forma, a manutenção das características bioquímicas e morfológicas do sangue armazenado.

**Tabela 10.** Valores médios (X) e desvio padrão (S) do pH sanguíneo no interior das bolsas do G1 e G2, nos momentos (D) analisados.

Grupos		D 0	D 7	D 14	D 21	D 31	D 41
G1	X	6,96 <sup>Aa</sup>	6,76 <sup>Ab</sup>	6,61 <sup>Ac</sup>	6,50 <sup>Ad</sup>	6,33 <sup>Ae</sup>	6,23 <sup>Af</sup>
	S	0,05	0,03	0,03	0,06	0,07	0,09
G2	X	6,97 <sup>Aa</sup>	6,78 <sup>Ab</sup>	6,63 <sup>Ac</sup>	6,53 <sup>Ad</sup>	6,39 <sup>Ae</sup>	6,27 <sup>Af</sup>
	S	0,01	0,04	0,05	0,04	0,04	0,06

Médias seguidas de letras iguais minúsculas na linha, não diferem entre si, segundo o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Médias acompanhadas de letras iguais maiúsculas na coluna não diferem entre si, segundo teste t de Student ( $p < 0,05$ ).



**Figura 9.** Representação dos valores médios do pH do sangue armazenado nas bolsas dos G1 e G2, nos momentos (dias) analisados.

#### 4.8 Pressão parcial de oxigênio ( $pO_2$ )

Houve, nos grupos, um aumento significativo ( $p < 0,05$ ) nos níveis da  $pO_2$ . Na comparação entre grupos, não foi observada diferença ( $p > 0,05$ ) (Tabela 11 e Figura 10).

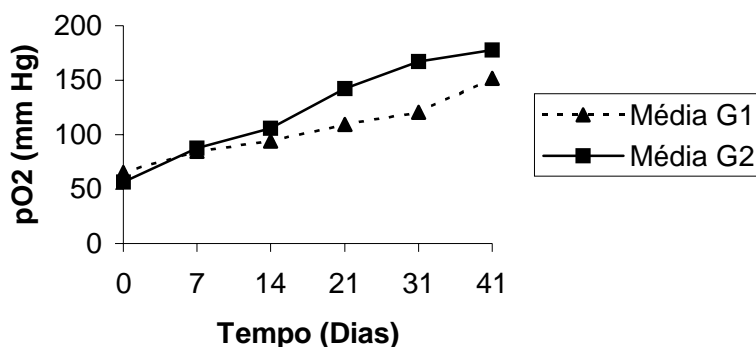
Ficou claro o aumento da  $pO_2$  em ambos os grupos. Este dado corrobora os encontrados por Ribeiro Filho *et al.* (1994), onde, em estudos com sangue bovino em bolsas CPDA-1, relataram que o plástico das bolsas é permeável ao  $O_2$ . Este fato pode explicar o aumento dos níveis da  $PO_2$  no sangue. Entretanto, contraria as afirmações de Högman *et al.* (2002), quando afirmam que o plástico é permeável apenas ao  $CO_2$ , sendo pobremente transpassado por outros gases.

Embora não tenham sido observadas diferenças significativas entre os valores do 41º dia entre os grupos, pelo gráfico é possível observar que o G2 apresentou uma discreta melhora nos níveis da  $pO_2$ , sugerindo que este grupo disponibilize uma concentração maior de  $O_2$  para o paciente transfundido.

**Tabela 11.** Valores médios (X) e desvio padrão (S) da  $pO_2$  (mmHg) do sangue armazenado nas bolsas do G1 e G2, nos momentos (D) analisados.

Grupos		D 0	D 7	D 14	D 21	D 31	D 41
G1	X	65,2 <sup>Ab</sup>	84,5 <sup>Aab</sup>	94,2 <sup>Aab</sup>	109,2 <sup>Aab</sup>	120,5 <sup>Aab</sup>	151,8 <sup>Aa</sup>
	S	4,5	16,6	24,2	38,3	57,3	70,9
G2	X	56,7 <sup>Ab</sup>	87,6 <sup>Aab</sup>	106,1 <sup>Aab</sup>	142,3 <sup>Aab</sup>	167,0 <sup>Aa</sup>	177,4 <sup>Aa</sup>
	S	4,9	13,5	37,6	73,9	84,5	74,8

Médias seguidas de letras iguais minúsculas na linha, não diferem entre si, segundo o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Médias acompanhadas de letras iguais maiúsculas na coluna não diferem entre si, segundo teste t de Student ( $p < 0,05$ ).



**Figura 10.** Representação dos valores médios da  $pO_2$  (mmHg) do sangue armazenado nas bolsas dos G1 e G2, nos momentos (dias) analisados.

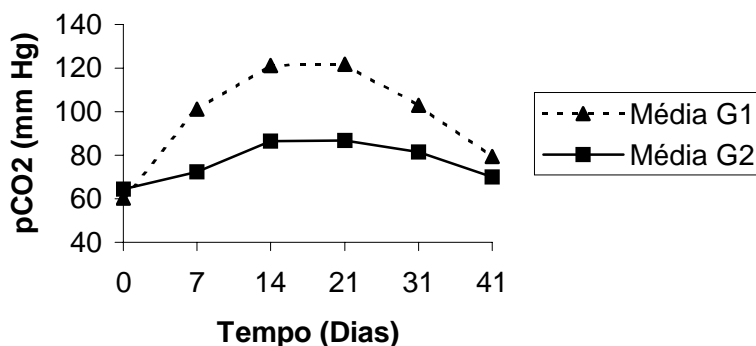
#### 4.9 Pressão parcial de dióxido de carbono ( $pCO_2$ )

A  $pCO_2$  apresentou um aumento inicial, estabilizando durante os dias 14 e 21, passando a reduzir a partir do dia 31 até o 41º dia para ambos os grupos. Esta variação somente foi significativa ( $p < 0,05$ ) para o G1 (Tabela 12 e Figura 11).

**Tabela 12.** Valores médios (X) e desvio padrão (S) da  $pCO_2$  (mmHg) do sangue de 14 cães armazenado nas bolsas do G1 e G2, nos momentos (D) analisados.

Grupos		D 0	D 7	D 14	D 21	D 31	D 41
G1	X	60,3 <sup>Ac</sup>	101,2 <sup>Aab</sup>	121,2 <sup>Aa</sup>	121,8 <sup>Aa</sup>	102,8 <sup>Ab</sup>	79,3 <sup>Abc</sup>
	S	4,8	9,1	19,4	24,6	21,3	30,1
G2	X	64,4 <sup>Aa</sup>	72,4 <sup>Ba</sup>	86,6 <sup>Ba</sup>	86,7 <sup>Ba</sup>	81,6 <sup>Aa</sup>	70,1 <sup>Aa</sup>
	S	9,1	7,9	13,6	20,9	29,8	29,2

Médias seguidas de letras iguais minúsculas na linha, não diferem entre si, segundo o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Médias acompanhadas de letras iguais maiúsculas na coluna não diferem entre si, segundo teste t de Student ( $p < 0,05$ ).



**Figura 11.** Representação dos valores médios da  $pCO_2$  (mmHg) do sangue armazenado nas bolsas dos G1 e G2, nos momentos (dias) analisados.

Na comparação entre grupos, foi observado que os valores da  $p\text{CO}_2$  do G1 foi superior aos valores observados no G2 nos dias sete, 14 e 21 ( $p < 0,05$ ). Esta variação do G1 também foi observada por Ribeiro Filho *et al.* (1994), quando estudaram o sangue bovino em bolsas CPDA-1.

O aumento dos níveis da  $p\text{CO}_2$  até o dia 14 se deu, provavelmente, pela neutralização do ácido láctico, resultando na produção de  $\text{CO}_2$ . A partir do 21º dia, talvez pela exaustão celular, a velocidade de produção deste gás foi reduzida, sendo assim ultrapassada pela quantidade de dióxido de carbono que atravessa o plástico na bolsa como mencionado por Hess e Greenwalt (2002). Desta forma pode ser justificada a redução dos níveis deste gás a partir do 31º dia.

Segundo Högman *et al.* (2002), altos níveis da  $p\text{CO}_2$  expõem o DPG a uma maior taxa de degradação, provavelmente por competir por seu sítio de ligação na hemoglobina. Mesmo tendo observado níveis da  $p\text{CO}_2$  estatisticamente iguais em ambos os grupos no 41º dia, no G1, a pressão parcial do  $\text{CO}_2$  se elevou significativamente mais que o G2 nos dias sete, 14 e 21, expondo, neste período, o DPG a uma maior degradação. Baseado nestes achados é possível afirmar que, por ter estatisticamente mantido estáveis os níveis da  $p\text{CO}_2$  no decorrer do período, o G2 apresentou um melhor desempenho.

#### **4.10 Bicarbonato plasmático ( $\text{HCO}_3^-$ )**

Uma redução gradual e altamente significativa foi observada em ambos os grupos ( $p < 0,01$ ). Na comparação das médias do bicarbonato entre grupos mostrou diferenças significativas entre os dias sete e 14 no G1 e G2 ( $p < 0,05$ ). Nos demais dias das análises não foram observadas diferenças significativas entre os grupos (Tabela 13 e Figura 12).

Segundo Luna (2002), o bicarbonato é uma base fraca e que é responsável por mais de 50% da capacidade tamponante do meio extracelular. Por isso, esta redução nos valores sanguíneos do  $\text{HCO}_3^-$  pode ser por um consumo deste íon no controle da acidez.

Provavelmente o consumo do bicarbonato foi equivalente à produção de ácido metabólico no interior das bolsas.

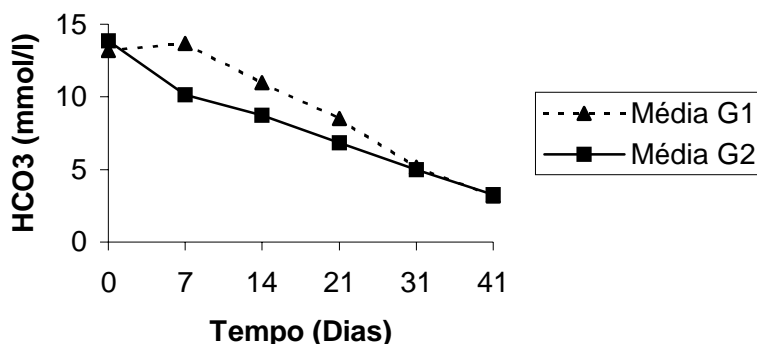
Este declínio do bicarbonato também foi encontrado por Ribeiro Filho *et al.* (1994), em estudo com sangue bovino conservado em bolsas CPDA-1.

Embora o G2 tenha mostrado maiores níveis de bicarbonato no 7º e 14º dias em relação ao G1, houve uma equiparação dos valores dos grupos testados até o 41º dia, não demonstrando vantagem da bolsa do G2 sobre a do G1 no que se refere a esta variável.

**Tabela 13.** Valores médios (X) e desvio padrão (S) do  $\text{HCO}_3^-$  (mmol/L) do sangue de 14 cães armazenado nas bolsas do G1 e G2, nos momentos (D) analisados.

Grupos		D 0	D 7	D 14	D 21	D 31	D 41
G1	X	13,2 <sup>Aa</sup>	13,7 <sup>Aa</sup>	11,0 <sup>Ab</sup>	8,5 <sup>Ac</sup>	5,2 <sup>Ad</sup>	3,2 <sup>Ae</sup>
	S	2,0	0,8	1,1	1,0	0,8	0,8
G2	X	13,8 <sup>Aa</sup>	10,1 <sup>Bb</sup>	8,7 <sup>Bbc</sup>	6,9 <sup>Acd</sup>	5,0 <sup>Ade</sup>	3,3 <sup>Ae</sup>
	S	2,1	0,9	1,6	2,0	1,8	1,5

Médias seguidas de letras iguais minúsculas na linha, não diferem entre si, segundo o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Médias acompanhadas de letras iguais maiúsculas na coluna não diferem entre si, segundo teste t de Student ( $p < 0,05$ ).



**Figura 12.** Representação dos valores médios do  $\text{HCO}_3^-$  (mmol/L) do sangue armazenado nas bolsas dos G1 e G2, nos momentos (dias) analisados.

#### 4.11 Morfologia

Na análise das variáveis presença de equinocitose e presença de microvesículas, foi encontrada correlação significativa ( $p < 0,05$ ) entre as variáveis em ambos os grupos. Desta forma, é possível afirmar que o aumento do número de equinócitos foi acompanhado pela elevação do número de microvesículas.

Entretanto, não houve diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) entre os grupos no decorrer do tempo. Com isto, concluiu-se que as alterações morfológicas presentes nos grupos foram estatisticamente semelhantes, não sendo possível definir qual grupo sofreu menos alterações morfológicas (Tabela 14).

Hess *et al.* (2000), demonstraram que não há correlação das alterações na morfologia com o grau de hemólise, mas pode ter alguma relação com os níveis de ATP.

**Tabela 14.** Análise estatística da comparação entre G1 e G2 para as variáveis presença de equinócito e presença de microvesículas no decorrer do tempo. Notar que o grau de significância foi superior a 5% ( $p>0,05$ ).

	D 0		D 7		D 14		D 21		D 31		D 41	
	G1	G2	G1	G2	G1	G2	G1	G2	G1	G2	G1	G2
<b>Tratamento</b>	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
<b>Médias</b>	3,0	3,5	6,2	6,2	6,4	6,2	7,8	7,8	7,8	7,8	8,0	7,5
<b>Dados</b>	5	6	5	6	5	6	5	6	5	6	5	6
<b>Valor do Teste</b>	0,09411		0,37827		0,57590		0,09696		0,0		0,60386	
<b>Variância</b>	28,22727		27,95455		27,13636		26,59091		22,09091		24,68182	
<b>Significância</b>	0,46251*		0,35262*		0,28235*		0,46138*		0,5*		0,27298*	

\* Não houve significância ( $P>0,05$ ).

Korte e Verhoeven (2004) afirmaram que a manutenção da morfologia é desejável, mas não necessariamente suficiente para manter a qualidade dos eritrócitos, uma vez que estas alterações são, em parte, reversíveis após ressuspensão em plasma. Entretanto para Wradrop *et al* (1994) estas alterações podem ser irreversíveis.

#### 4.12 Anisocitose

Foi observado anisocitose em todos os momentos de ambos os grupos.

Esta anisocitose provavelmente se deu pelo ingurgitamento das células em contato com as soluções aditivas. Segundo Korte e Verhoeven (2004), as soluções presentes nas bolsas são capazes de promover uma edemaciação das células. Com conseqüente aumento em seu volume.

Tais alterações não foram observadas na mesma proporção por D'Almeida *et al.* (2000), que relataram a ocorrência de ligeiras mudanças morfológicas nas células vermelhas de humanos e ratos conservadas em bolsas CPDA-1.

Segundo afirmações de Hess e Greenwalt (2002), este efeito edemaciante sobre as células é desejável, pois reduziria alterações morfológicas como as microvesiculações e a formação de equinócitos.

É provável que a separação dos componentes sanguíneos, plasma e concentrado de hemácias, das bolsas CPD/SAG-M apresentem um desempenho ainda melhor dos parâmetros observados ao final do período de 41 dias. Especialmente, se retirados os

leucócitos do concentrado de hemácias, pois, segundo Scott *et al.* (2005), as células brancas presentes no armazenado consomem as reservas energéticas e liberam enzimas biorreativas que causam danos às células vermelhas.

Além disto, as bolsas CPD/SAG-M possuem uma bolsa primária (CPD) que recebe o sangue total e de onde são separados os componentes sanguíneos. A partir daí, as células vermelhas seriam transportadas para a segunda bolsa contendo a solução preservativa SAG-M. Com este processamento, a solução preservativa não seria diluída pelo plasma e as reservas de energia seriam de uso exclusivo das hemácias, que não sofreriam danos pela presença dos leucócitos.

## 5. CONCLUSÕES

Após a análise dos resultados obtidos e nas condições deste estudo, pode-se concluir, até o 41º dia de armazenamento do sangue canino em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M que:

O 2,3-difosfoglicerato continua a ser produzido mesmo em pH inferior a sete nas bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M por, pelo menos, uma semana.

As concentrações do potássio plasmático não se elevam de forma significativa quando comparadas com humanos e eqüinos, principalmente nas bolsas CPD/SAG-M.

A bolsa CPD/SAG-M demonstrou maiores vantagens quando comparada a CPDA-1, mantendo o sangue viável por, pelo menos, 41 dias de estocagem, no que se refere às variáveis proteína plasmática total, glicose plasmática, potássio plasmático, pO<sub>2</sub> e pCO<sub>2</sub>.

É mais indicado o uso das bolsas CPD/SAG-M para a conservação do sangue canino sob refrigeração em um período mínimo de 41 dias de armazenagem em relação às bolsas CPDA-1.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AUTHEMENT, J.M.; WOLFSHEIMER, K.J.; CATCHINGS, S. Canine blood component therapy: product preparation, storage and administration. **Journal of American Animal Hospital Association**, v. 23, p. 483-493, 1986.

BROOKS, M. Transfusion medicine. In: Murtaugh, R.J.; Kaplan, P.M. **Veterinary Emergency and Critical Care Medicine**. Saint Louis: Mosby Yearbook. 1992. 935p.

BUNN, H.F. Differences in interactions of 2,3-diphosphoglycerate with certain mammalian hemoglobins. **Science**, v.23, p.1049-1050, 1971.

BUSH, B.M. Eletrólitos e Metais In: \_\_\_\_\_. **Interpretação de Resultados Laboratoriais para Clínicos de Pequenos Animais**. Roca. ed 1, 2004. p. 262-289.

CHIARAMONTE, D. Blood-Component therapy: selection, administration and monitoring. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 19, n. 2, p. 63-67, 2004.

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.

D'ALMEIDA, M. S.; JAGGER, J.; DUGGAN, M. et al. A comparison of biochemical and functional alterations of rat and human erythrocytes stored in CPDA-1 for 29 days: implications for animal models of transfusion. **Transfusion Medicine**, v. 10, p. 291-303, 2000.

EISENBRANDT, D.L.; SMITH, J.E. Use of biochemical measures to estimate viability of red blood cells in canine blood storage in acid citrate dextrose solution, with and without added ascorbic acid. **Journal of American Animal Hospital Association**, v.163, n. 8, p.984-987, 1973.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. **Tratado de Fisiologia Médica**, Guanabara Koogan, 9 ed, 1997. 864p.

HESS, J.R.; RUGG, N.; GORMAS, J.F.; KNAPP, A.D.; GREENWALT, T.J. The meaning of RBC morphologic changes during blood bank storage. **Transfusion**, v. 60, 60s, 2000.

HESS, J.R.; GREENWALT, T.J. Storage of blood cells: New approaches. **Transfusion Medicine Reviews**, v. 16, n. 4, p. 283-295, 2002.

HESS, J.R.; HILL, H.R.; OLIVER, C.K.; LIPPERD, L.E.; GREENWALT, T.J. Alkaline CPD and the preservation of RBC 2,3-DPG. **Transfusion**, v. 42, p. 747-752, 2002.

HÖGMAN, C.F.; KNUTSON, F.; LÖÖF, H.; PAYRAT, M. Improved maintenance of 2,3 DPG and ATP in RBCs stored in a modified additive solution. **Transfusion**, v. 42, p. 824-829, 2002.

JAIN, N. C. **Veterinary Hematology**. 4 ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1986. 1221p.

KERR, M.G. Eletrólitos In: \_\_\_\_\_. **Exames Laboratoriais em Medicina Veterinária: Bioquímica Clínica e Hematologia**. Roca. ed. 2, 2003. p. 95-106.

KORTE, D.; VERHOEVEN, A.J. Quality Determinants of erythrocyte destined for transfusion. **Cellular and Molecular Biology**, v. 50, n. 2, p. 187-195, 2004.

KRISTENSEN, A.T.; FELDMAN, B.F. Bancos de sangue e medicina transfusional. In: ETTINGER, E. J.; FELDMAN, E. C. ed. **Tratado de Medicina Interna de Pequenos Animais**. Manole. Ed 1, 4 ed, v.1, 1997, p. 497-517.

KURUP, P.A.; ARUN, P.; GAYATHRI, C.R.; DHANYA, C.R.; INDU, A.R. Modified formulation of CPDA for storage of whole, and of SAGM for storage of red blood cells, to maintain the concentration of 2,3-diphosphoglycerate. **Vox Sanguinis**, v.85, p. 253-261, 2003.

LOPES, R.S.; KOHAYAGAWA, A., RIBEIRO FILHO, J.D. Alterações hematológicas e bioquímicas em sangue total de eqüinos, conservado para transfusão em bolsas plásticas com ACD-F. **Revista Universidade Rural: Ciência da Vida**, v.17, p.91-94, 1995.

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.

LUNA, S.P.L. Equilíbrio Ácido-básico In: FANTONI, D.T.; CORTOPASSI, S.R.G. ed. **Anestesia em Cães e Gatos**. Roca. 2002. p. 120-129.

MEYER, D.J.; COLES, E.H.; RICH, L.J. Homeostasia e Distúrbios Eletrolíticos e Ácido-Básicos. In: \_\_\_\_\_. **Medicina de laboratório Veterinário: Interpretação e diagnóstico**. Roca. 1995. p. 83-90.

NUSBACHER, J. Blood transfusion is mononuclear cell transplantation. **Transfusion**, v.34, p.1002-1004, 1994.

OLIVEIRA, M.A.G. **Avaliação do Volume Globular de Cães Doadores Após a Coleta de Sangue**. 1998. 22f. Monografia (Especialização em Clínica e Cirurgia Veterinárias) - Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG.

O'ROURKE, L.G. Practical Blood transfusion. In: KIRK, R. W. ed. **Current Veterinary Therapy**, Philadelphia: Saunders, v. 8, 1983. p. 408-411.

OU, D.; MAHAFFEY, E.; SMITH, J.E. Effect of storage on oxygen dissociation of canine blood. **Journal American Animal Hospital Association**, v.167, p.56-58, 1975.

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, 1993.

RIBEIRO FILHO, J.D.; ALMEIDA, C.T.; GONÇALVES, R.C.; KOHAYAGAWA, A.; CURI, P.R. Alterações hemogasométrias 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, 1994.

ROZANSKI, E; LAFORCADE, A.M. Transfusion medicine in veterinary emergency and critical care medicine. **Clinical Techniques in Small Animal Parctice**, v. 19, n. 2, p. 83-87, 2004.

SCHMIDT, P.J.; LEACOCK, A.G. Forgotten transfusion history. **British Medical Journal**, v. 325, p. 1485-1487, 2002.

SCOTT, K.L.; LECAK, J.; ACKER, J.P. Biopreservation of blood cells: past, present, and future. **Transfusion Medicine Reviews**, v. 19, n. 2, p. 127-142, 2005.

SMITH, J.E.; MAHAFFEY, E.; BOARD, P. A new storage medium for canine blood. **American Veterinary Medical Associacion**, v. 15, p. 701-703, 1978.

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

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, p.83-88, 1994.

WILLER, R.L.; RIEDESEL, D.H. Transfusion therapy and blood banking in the dog and cat. **Iowa State University Veterinary**, v.47, p.102-109, 1985.

## 7. ANEXO

**Tabela Anexada 1.** Valores da Proteína Plasmática Total (g/dL) em cada animal do estudo, seguido da sua média aritmética (M) e do desvio padrão (S) no decorrer do período (D) das análises.

Grupos	Animal	D 0	D 7	D 14	D 21	D 31	D 41
Grupo 1	2	7,8	7,8	8	7,5	7,8	8
	3	7,6	7,8	8,3	7,8	9	9,5
	4	4	6,8	7	6,5	7,2	7,6
	5	4	6,7	7	6,5	7	8
	6	6,6	6,7	7	6,8	7	8
	7	5,4	5,2	5,4	5,2	5,8	7
	M	5,9	6,8	7,1	6,7	7,3	8,0
	S	1,70	0,96	1,02	0,92	1,06	0,83
	Grupo 2	8	7	4	4,8	3,9	4
9		7	4	4,2	3,8	4	4,8
10		4,2	4	4,5	3,8	3,9	4,8
11		5,1	4,9	5,2	4,8	5	5,8
12		5	4,9	5,2	4,5	4,9	5,6
13		5	5	5,1	4,8	5	5,8
14		3,8	3,5	3,8	4	4,2	4,5
M		5,3	4,3	4,7	4,2	4,4	5,2
S		1,26	0,59	0,54	0,46	0,51	0,54

**Tabela Anexada 2.** Valores da Glicose Plasmática (mg/dL) em cada animal do estudo, seguido da sua média aritmética (M) e do desvio padrão (S) no decorrer do período (D) das análises.

Grupos	Animal	D 0	D 7	D 14	D 21	D 31	D 41
Grupo 1	2	764	578	533	537	394	489
	3	696	522	173	263	136	60
	4	786	528	481	395	367	221
	5	957	522	495	367	319	228
	6	950	522	443	372	214	177
	7	682	819	696	820	685	282
	M	805,8	581,8	470,2	459,0	352,5	242,8
	S	121,0	118,2	170,1	197,5	189,6	141,8
	Grupo 2	8	758	651	677	763	521
9		561	674	671	667	515	892
10			662	688	596	456	476
11		676	567	682	598	571	587
12		625	603	639	212	555	493
13		617	485	622	508	400	328
14		815	807	891	674	600	461
M		675,3	635,6	695,7	574,0	516,9	542,4
S		95,2	100,2	89,4	178,3	69,1	175,1

**Tabela Anexada 3.** Valores do Sódio Plasmático (mEq/L) em cada animal do estudo, seguido da sua média aritmética (M) e do desvio padrão (S) no decorrer do período (D) das análises.

Grupos	Animal	D 0	D 7	D 14	D 21	D 31	D 41
Grupo 1	2	184	178	184	184	184	188
	3	110	172	82	154	178	112
	4	80	112	162	176	176	186
	5	162	174	124	174	172	176
	6	158	170	172	178	176	156
	7	138	162	156	176	168	174
	M	138,7	161,3	146,7	173,7	175,7	165,3
	S	38,0	24,7	37,6	10,2	5,4	28,5
Grupo 2	8	156	116	152	158	158	162
	9	152	120	156	164	148	168
	10	158	138	168	146	128	158
	11	150	150	162	148	156	168
	12	146	166	168	138	160	150
	13	152	144	174	148	148	168
	14	162	152	156	122	140	138
	M	153,7	140,9	162,3	146,3	148,3	158,9
	S	4,9	16,5	7,4	12,6	10,5	10,5

**Tabela Anexada 4.** Valores do Potássio Plasmático (mEq/L) em cada animal do estudo, seguido da sua média aritmética (M) e do desvio padrão (S) no decorrer do período (D) das análises.

Grupos	Animal	D 0	D 7	D 14	D 21	D 31	D 41
Grupo 1	2	3,2	4,1	4,2	4,3	4,6	4,9
	3	1,8	4,5	2,3	4,6	6	3,5
	4	0,8	2,7	4,5	5,3	5,7	6,5
	5	1,9	4,5	3,4	5	5,4	6
	6	1,9	4,8	5	5,2	5,4	5
	7	2,4	3,4	3,9	4,4	4,4	4,9
	M	2,0	4,0	3,9	4,8	5,3	5,1
	S	0,8	0,8	0,9	0,4	0,6	1,0
Grupo 2	8	2,8	1,8	2,9	3,2	3,4	3,6
	9	2,9	2,1	3	3,4	3,1	3,8
	10	2,6	2,5	3,4	3	2,7	3,7
	11	2,1	2,8	3,2	3	3,7	4
	12	1,9	3,2	3,5	2,9	3,6	3,6
	13	2,1	2,9	3,7	3,7	4	4,6
	14	2,2	2,8	3,1	2,5	2,9	3
	M	2,4	2,6	3,3	3,1	3,3	3,8
	S	0,4	0,5	0,3	0,4	0,5	0,5

**Tabela Anexada 5.** Valores do Número de Hemácias (por  $\mu\text{L}$  de sangue) em cada animal do estudo, seguido da sua média aritmética (M) e do desvio padrão (S) no decorrer do período (D) das análises.

Grupos	Animal	D 0	D 7	D 14	D 21	D 31	D 41
Grupo 1	2	3390000	4200000	2770000	2740000	3130000	3770000
	3	6010000	6410000	5700000	5960000	7430000	7200000
	4	6820000	5850000	5440000	4970000	5750000	5580000
	5	6080000	6300000	5590000	5050000	6290000	5010000
	6	6100000	6310000	6010000	4840000	6110000	6090000
	7	6420000	9500000	5400000	5910000	5330000	5260000
	M	5803333	6428333	5151667	4911667	5673333	5485000
	S	1220273	1718481	1187155	1169571	1431722	1143132
Grupo 2	8	6420000	5100000	3870000	3580000	5030000	4350000
	9	5480000	4670000	3200000	4230000	4210000	4550000
	10	4100000	3690000	3880000	4120000	5770000	3910000
	11	6130000	4120000	4150000	4520000	4720000	3820000
	12	5500000	4050000	4140000	3520000	4080000	3700000
	13	5200000	5000000	5200000	3620000	6190000	5310000
	14	6000000	7850000	6790000	4810000	4500000	4410000
	M	5547143	4925714	4461429	4057143	4928571	4292857
	S	766827	1390190	1186528	503677	792999	553676

**Tabela Anexada 6.** Valores do 2,3-Difosfoglicerato (mmol/L) em cada animal do estudo, seguido da sua média aritmética (M) e do desvio padrão (S) no decorrer do período (D) das análises.

Grupos	Animal	D 0	D 7	D 14	D 21	D 31	D 41
Grupo 1	2	2,5	6,3	3,6	3	1,3	1,2
	3	2,8	5,8	3,5	2,8	2	1,6
	4	0,9	4,4	2,9	1,6	1,1	0,6
	5	2,7	5,1	2,8	2	1,4	0,8
	6	3	4,6	2,8	1,6	0,9	0,5
	7	2,4	4,68	3,6	3,4	2,5	1,1
	M	2,4	5,1	3,2	2,4	1,5	1,0
	S	0,8	0,8	0,4	0,8	0,6	0,4
Grupo 2	8	0,2	4,8	2,3	1	0,9	0,7
	9	2,8	5	2,3	1,2	0,9	0,6
	10	2,75	5,3	2,25	1,3	1,2	0,5
	11	5,1	5,6	3,4	2,6	2,4	1,4
	12	5,5	5,7	3,6	2,2	2,1	2
	13	4,8	5,3	3,8	3,2	2,7	1,4
	14	3,01	4,9	2,5	1,8	1,2	0,8
	M	3,5	5,2	2,9	1,9	1,6	1,1
	S	1,8	0,3	0,7	0,8	0,8	0,6

**Tabela Anexada 7.** Valores do pH sanguíneo em cada animal do estudo, seguido da sua média aritmética (M) e do desvio padrão (S) no decorrer do período (D) das análises.

Grupos	Animal	D 0	D 7	D 14	D 21	D 31	D 41
Grupo 1	2	7,03	6,79	6,65	6,6	6,44	6,36
	3	7,02	6,77	6,6	6,5	6,36	6,27
	4	6,93	6,77	6,62	6,47	6,25	6,19
	5	6,92	6,77	6,62	6,51	6,36	6,25
	6	6,93	6,77	6,58	6,46	6,26	6,14
	7	6,94	6,7	6,59	6,44	6,3	6,14
	M	6,96	6,76	6,61	6,50	6,33	6,23
	S	0,05	0,03	0,03	0,06	0,07	0,09
Grupo 2	8	6,97	6,76	6,6	6,48	6,36	6,25
	9	6,97	6,75	6,61	6,51	6,38	6,29
	10	6,98	6,76	6,58	6,49	6,34	6,17
	11	6,98	6,83	6,69	6,58	6,43	6,34
	12	6,98	6,82	6,66	6,58	6,43	6,32
	13	6,98	6,82	6,69	6,55	6,37	6,25
	14	6,95	6,73	6,61	6,53	6,41	6,28
	M	6,97	6,78	6,63	6,53	6,39	6,27
	S	0,01	0,04	0,05	0,04	0,04	0,06

**Tabela Anexada 8.** Valores da Pressão Parcial de Oxigênio (mmHg) em cada animal do estudo, seguido da sua média aritmética (M) e do desvio padrão (S) no decorrer do período (D) das análises.

Grupos	Animal	D 0	D 7	D 14	D 21	D 31	D 41
Grupo 1	2	69	98	114	160	207	247
	3	71	111	132	151	157	167
	4	64	67	73	81	83	98
	5	64	76	80	89	104	144
	6	65	80	93	107	128	204
	7	58	75	73	67	44	51
	M	65,2	84,5	94,2	109,2	120,5	151,8
	S	4,5	16,6	24,2	38,3	57,3	70,9
Grupo 2	8	52	85	98	145	247	251
	9	52	87	99	119	132	163
	10	52	105	168	253	259	204
	11	62	79	82	97	121	178
	12	61	82	90	99	110	140
	13	62	106	146	231	252	264
	14	56	69	60	52	48	42
	M	56,7	87,6	106,1	142,3	167,0	177,4
	S	4,9	13,5	37,6	73,9	84,5	74,8

**Tabela Anexada 9.** Valores da Pressão Parcial de Dióxido de Carbono (mmHg) em cada animal do estudo, seguido da sua média aritmética (M) e do desvio padrão (S) no decorrer do período (D) das análises.

Grupos	Animal	D 0	D 7	D 14	D 21	D 31	D 41
Grupo 1	2	59	90	99	91	78	60
	3	60	92	107	113	109	91
	4	57	107	127	134	113	75
	5	58	104	122	121	98	65
	6	58	100	117	109	83	51
	7	70	114	155	163	136	134
	M	60,3	101,2	121,2	121,8	102,8	79,3
	S	4,8	9,1	19,4	24,6	21,3	30,1
Grupo 2	8	74	70	78	71	49	38
	9	75	73	87	89	85	71
	10	73	68	74	62	50	57
	11	54	69	90	93	89	69
	12	57	69	92	94	99	82
	13	58	68	73	73	66	47
	14	60	90	112	125	133	127
	M	64,4	72,4	86,6	86,7	81,6	70,1
	S	9,1	7,9	13,6	20,9	29,8	29,2

**Tabela Anexada 10.** Valores do Bicarbonato Plasmático (mmol/L) em cada animal do estudo, seguido da sua média aritmética (M) e do Desvio Padrão (S) no decorrer do período (D) das análises.

Grupos	Animal	D 0	D 7	D 14	D 21	D 31	D 41
Grupo 1	2	15	13	10	8	5	3
	3	15	13	10	8	6	4
	4	11	15	12	9	5	3
	5	11	14	12	9	5	3
	6		14	10	7	4	2
	7	14	13	12	10	6	4
	M	13,2	13,7	11,0	8,5	5,2	3,2
	S	2,0	0,8	1,1	1,0	0,8	0,8
Grupo 2	8	16	9	7	5	3	2
	9	17	10	8	7	5	3
	10		9	7	4	3	2
	11	12	11	10	8	6	4
	12	13	11	10	8	6	4
	13	13	10	8	6	4	2
	14	12	11	11	10	8	6
	M	13,83	10,14	8,71	6,86	5,00	3,29
	S	2,14	0,90	1,60	2,04	1,83	1,50

**Tabela Anexada 11.** Escore, segundo Tabela 2, determinado para as células vermelhas dos animais nas avaliações morfológicas no decorrer do período (D).

<b>Grupos</b>	<b>Animal</b>	<b>D 0</b>	<b>D 7</b>	<b>D 14</b>	<b>D 21</b>	<b>D 31</b>	<b>D 41</b>
<b>Grupo 1</b>	<b>2</b>	3	3	6	6	6	6
	<b>3</b>	3	7	5	8	8	8
	<b>4</b>	3	6	6	9	9	9
	<b>5</b>	6	7	7	8	8	8
	<b>6</b>		8	8	8	8	9
<b>Grupo 2</b>	<b>8</b>	2	9	8	9	8	8
	<b>9</b>	3	6	1	7	8	8
	<b>10</b>		6	8	6	6	8
	<b>11</b>	6	3	4	8	8	8
	<b>12</b>	2	7	8	9	9	9
	<b>13</b>	8	6	8	8	8	4