

JULIANA SANTANA VALENTE BAETA

**INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE FERRO E VITAMINAS  
HEMATOPOIÉTICAS (VITAMINA B<sub>12</sub> E ÁCIDO FÓLICO) NO TEMPO DE  
RECUPERAÇÃO DO HEMATÓCRITO EM CÃES APÓS DOAÇÃO DE  
SANGUE**

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  
2015

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa

T

B145i  
2015 Baeta, Juliana Santana Valente, 1983-  
Influência da suplementação de ferro e vitaminas  
hematopoiéticas (vitamina B12 e ácido fólico) no tempo de  
recuperação do hematócrito em cães após doação de sangue /  
Juliana Santana Valente Baeta. – Viçosa, MG, 2015.  
vii, 30f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexos.

Orientador: Paulo Renato dos Santos Costa.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Hematologia veterinária. 2. Cães. 3. Doadores de  
sangue. 4. Sangue - Transfusão. I. Universidade Federal de  
Viçosa. Departamento de Veterinária. Programa de  
Pós-graduação em Medicina Veterinária. II. Título.


CDD 22. ed. 636.089615

JULIANA SANTANA VALENTE BAETA

**INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE FERRO E VITAMINAS  
HEMATOPOIÉTICAS (VITAMINA B<sub>12</sub> E ÁCIDO FÓLICO) NO TEMPO DE  
RECUPERAÇÃO DO HEMATÓCRITO EM CÃES APÓS DOAÇÃO DE  
SANGUE**

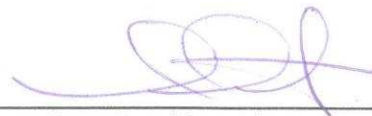
Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 22 de setembro de 2015.



---

Jair Duarte da Costa Júnior



---

Leandro Abreu da Fonseca  
(Co-orientador)



---

Paulo Renato dos Santos Costa  
(Orientador)

“A compaixão pelos animais está intimamente ligada a bondade de caráter, e pode ser seguramente afirmado que quem é cruel com os *animais não pode ser um bom homem*”

(Arthur Schopenhauer)

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por iluminar o meu caminho, por me dar “saúde, força e fé”, para sempre seguir em frente.

Aos meus pais, José Antônio Saraiva Valente e Ana Maria Santana Valente pela criação que me deram, os quais mesmo com a distância sempre se fizeram presente em todas as etapas de minha vida.

Ao meu Marido Ualtison Xisto Baeta, pelo companheirismo, amizade, carinho, apoio e cuidado durante todos esses anos.

Ao meu filho, Caio Valente Baeta, fonte de inspiração para minha vida, o meu muito obrigado e minhas sinceras desculpas pelos dias de ausência e cansaço, o teu sorriso alegra todos os meus dias e me dá força para sempre seguir a diante.

Ao meu irmão Leandro Santana Valente e sua esposa Pollyanna de Oliveira Alves Valente, por todo carinho, amizade e apoio.

Ao meu orientador, professor Paulo Renato dos Santos Costa, agradeço a oportunidade de orientação durante o mestrado, a confiança, o apoio, e ensinamentos.

Ao meu co-orientador, professores Leandro Abreu da Fonseca pela paciência e disponibilidade em me auxiliar durante o mestrado.

Ao professor Jair Duarte da Costa Junior, pelo apoio, amizade e incentivo a execução deste trabalho.

Ao professor Dr. José Dantas Ribeiro Filho por permitir a utilização do Laboratório de patologia clínica do departamento de Medicina Veterinária da UFV para a análise das amostras.

Ao Fabrício Valente, pelo carinho e apoio nas análises estatísticas.

Aos Residentes do Hospital Veterinário em especial à Lara Barbosa Esteves, por toda ajuda e disponibilidade durante as coletas.

Ao Funcionário do hospital veterinário, Camilo pela ajuda disponibilizada e ajuda indispensável durante as coletas.

À iniciação científica Stéfany Dias, pela dedicação, ajuda e amizade.

A todos os amigos que contribuíram para a realização deste trabalho, em especial, João Victor Facchini Rodrigues, Ludmila Souza Fernandes, pelo apoio nas coletas.

À grande amiga Idelvania dos Anjos Nonato, por estar sempre presente em todas as etapas do meu mestrado, pelo apoio e amizade de todas as horas.

À secretária da Pós-Graduação Rosi, pela dedicação e carinho.

Aos técnicos do Laboratório de Patologia Clínica Lucinda, Áecio, Aloizio e Luiz Márcio pela disponibilização, ajuda e amizade durante todo o tempo de experimento.

Ao órgão de fomento CAPES pela bolsa de estudo concedida durante o mestrado.

A todos os professores e funcionários do departamento de veterinária da UFV que direta ou indiretamente contribuíram com este estudo.

À DUPRAVET que gentilmente cedeu todo o suplemento utilizado neste trabalho.

Aos Doadores e seus proprietários pela ajuda e compreensão, sem as quais esse trabalho não poderia ser realizado.

À Universidade Federal de Viçosa, especialmente ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária pela oportunidade de cursar o mestrado.

## SUMÁRIO

	Pág.
RESUMO.....	vi
ABSTRACT.....	vii
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	03
2.1. Fisiologia dos eritrócitos.....	03
2.2. Síntese e Metabolismo da hemoglobina.....	03
2.3. Eritropoiese.....	04
2.4. Metabolismo do ferro.....	07
2.5. Demais substâncias eritropoiéticas.....	09
2.6. Medicina de transfusão.....	10
3. OBJETIVOS.....	13
3.1. Objetivo geral.....	13
3.2. Objetivos específicos.....	13
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	14
4.1. Animais.....	14
4.2. Coleta das bolsas sangue.....	14
4.3. Análises laboratoriais.....	15
4.4. Análises estatísticas.....	16
4.5. Aspectos éticos da pesquisa.....	16
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	17
6. CONCLUSÕES.....	23
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	24

## RESUMO

BAETA, Juliana Santana Valente, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, setembro de 2015. **Influência da suplementação de ferro e vitaminas hematopoiéticas (vitamina B<sub>12</sub> e ácido fólico) no tempo de recuperação do hematócrito em cães após doação de sangue.** Orientador: Paulo Renato dos Santos Costa. Coorientador: Leandro Abreu da Fonseca.

Este trabalho teve como objetivo determinar o período de recuperação do hematócrito de cães doadores após múltiplas doações de sangue, além de avaliar a resposta reticulocitária de animais suplementados e não suplementados com ferro e vitaminas de influência hematopoiética. Para isto, foram utilizados 10 cães adultos, de ambos os sexos, com peso variando entre 25 e 30 kg, de comportamento dócil, com hematócrito igual ou superior a 40% e em boas condições de saúde. Os animais foram separados em dois grupos, contendo cinco cães cada, sendo um grupo (G<sub>1</sub>) formado por cães que não receberam suplementação de vitaminas e minerais, além das contidas na alimentação e o outro grupo (G<sub>2</sub>) formado por cães que receberam suplementação à base de ferro e vitaminas do complexo B. Foram realizadas três coletas de 16 ml/kg de sangue de cada animal em intervalos de 15 dias entre as coletas. Foi mensurado o hematócrito antes de cada doação (T<sub>0</sub>) e imediatamente após a doação (T<sub>1</sub>) seguidas de mensurações diárias, em conjunto com a contagem de reticulócito, até que os animais recuperassem o hematócrito inicial. A análise dos resultados mostrou redução significativa de até 2% do hematócrito de T<sub>0</sub> para T<sub>1</sub>, no entanto a redução máxima só pode ser observada pós 24 horas. O grupo dos animais não suplementados apresentou o início de recuperação do hematócrito no quarto dia, na primeira e na segunda doação, porém na terceira doação essa recuperação iniciou no quinto dia. Já o grupo dos animais suplementados apresentou o início de recuperação no quarto dia após primeira coleta, porém na segunda e terceira doação a recuperação iniciou no terceiro dia. Os cães não suplementados recuperaram o hematócrito após 10 dias da doação, enquanto os cães suplementados em apenas 7 dias. A análise dos reticulócitos mostrou que o grupo que não recebeu suplementação atingiu pico de produção em 5 dias enquanto o grupo que recebeu suplementação atingiu o pico em 3 dias. Os valores máximos de reticulócitos não foram afetados pelo tratamento. Entretanto, houve diminuição desses valores entre a segunda e a terceira doação e entre a primeira e a terceira para ambos os grupos. Conclui-se que os cães do grupo suplementado apresentaram uma recuperação do hematócrito mais rápida após a doação, além disto, os cães foram capazes de doar 3 vezes em intervalos de 15 dias sem danos aparentes a saúde, embora aparentemente houvesse indício desgaste medular.



## ABSTRACT

BAETA, Juliana Santana Valente, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, September, 2015. **The influence of iron supplementation and hematopoietic vitamins (vitamin B<sub>12</sub> and folic acid) in the recovery time of the hematocrit levels in dogs after blood donation.** Advisor: Paulo Renato dos Santos Costa. Co-advisor: Leandro Abreu da Fonseca.

This present work aimed at determining the recovery period of the hematocrit level in blood donor dogs after multiple blood donations. It also intended to evaluate the reticulocyte response in animals receiving and animals not receiving supplementation with iron and vitamins of hematopoietic influence. For this purpose, 10 adult dogs of both sexes were studied. Their weights varied between 25 and 30 kg, all of them were well behaved and docile, with the hematocrit levels at 40% or higher, and all in perfect good health. The animals were divided into two groups, with five dogs in each. The first group (G<sub>1</sub>) consisted of dogs that did not receive any supplementation of vitamins and minerals in addition to the ones already contained in their diet. The second group (G<sub>2</sub>) was formed by dogs that received iron and B complex vitamin supplementation. There were three blood collections of 16 ml/kg each, in each animal, every 15 days. The hematocrit was measured immediately before each donation (T<sub>0</sub>) and immediately after as well (T<sub>1</sub>). In the following days the hematocrit and reticulocyte were measured to the point when the animals recovered their initial levels of hematocrit. The analysis of the results revealed a significant hematocrit decline of up to 2% from T<sub>0</sub> to T<sub>1</sub>. However, the maximum reduction could only be noticed after 24 hours. The group of animals without supplementation exhibited the beginning of hematocrit recovery in the fourth day in the first and second donations. However, in the third donation the recovery only started in the fifth day. In the group of animals with supplementation the beginning of the recovery was observed in the fourth day after the first donation, but in the second and third donations the recovery began in the third day. The dogs that did not receive the supplementation recovered the hematocrit levels 10 days after the donations, while the dogs that received the supplementation recovered the initial volume in just 7 days. The analysis of the reticulocyte showed that the group that did not receive the supplementation reached a reticulocyte production peak in approximately 5 days, whereas the group that received the supplementation reached the production peak in approximately 3 days. The maximum values of reticulocyte were not affected by the treatment. However, there was a decrease of those values between the second and the third donation and between the first and the third donation in both groups. Thus, it can be concluded that the dogs from the group that received the supplementation showed time optimization in their blood recovery after each donation. Furthermore, the dogs were able to donate blood 3 times in an 15-day interval with no apparent damage to their health.

## 1. INTRODUÇÃO

A prática da transfusão sanguínea teve início no século passado na medicina humana. Entretanto, foi somente no início do século XX que as conquistas tecnológicas permitiram o uso mais difundido deste recurso. Na medicina veterinária as terapias transfusionais iniciaram na década de 1950, posteriormente houve um crescente aumento nesta prática estimulando o surgimento de bancos de sangue comerciais para animais de companhia (LACERDA, 2005).

A transfusão sanguínea é uma forma de tratamento emergencial capaz de produzir uma melhora substancial, porém transitória da condição clínica do paciente exigindo a correção da causa primária da enfermidade. Em muitos casos, múltiplas transfusões são necessárias (FELDMAN & SINK, 2007).

Um dos primeiros fatores a ser considerado para a coleta é a escolha do doador. Os cuidados a serem tomados na escolha dos cães são de crucial importância para a segurança dos próprios doadores, bem como dos animais que serão transfundidos. Por isso, antes de cada doação, o histórico do doador deve ser avaliado. O animal deve ser submetido a um exame físico e a testes de controle laboratorial. O doador deve preferencialmente ser um adulto jovem, de comportamento dócil, ser DEA 1.1 (Dog Erythrocyte Antigen) negativo, possuir hematócrito superior a 40%, pesar pelo menos 23 kg, ser vacinado contra as principais doenças infecciosas e ter protocolo de vermifugação atualizado; o doador não deve estar sob qualquer tratamento, ser isento de doenças de possível transmissibilidade hematogena, livres de carrapatos ou outros vetores de doenças, além de nunca ter recebido terapia sanguínea ou qualquer um dos hemoderivados (LANEVSKI & WARDROP, 2001; HONHENHAUS, 2004; LUCAS, et al. 2004; LACERDA, 2005; FELDMAN & SINK, 2007; MOROZ & VIEIRA, 2015).

Frente a escassez de animais que atendam às características de um cão doador, e para se manter um banco de sangue que atenda a rotina de um hospital veterinário, faz-se necessário padronizar o intervalo de tempo de doação. Dessa forma, o procedimento de doação/transfusão se tornará mais confiável, além de otimizar o reduzido número de doadores, assegurando à eles uma qualidade de vida e a não ocorrência de prejuízos à sua saúde.

Este estudo trabalha a hipótese de que os animais após as doações se recuperam hematologicamente em um período mais curto, do que o tempo relatado pela literatura, estando aptos para novas doações, além disso, levanta-se a hipótese de que a suplementação de cães doadores com ferro e vitaminas do complexo B contribua para acelerar o tempo de recuperação entre as doações.

Objetivo deste trabalho foi determinar o período de recuperação do hematócrito de cães após múltiplas doações de sangue, além de avaliar a resposta reticulocitária de animais suplementados e não suplementados com ferro e vitaminas de influência hematopoiética.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Fisiologia dos Eritrócitos

Os eritrócitos, também chamado de hemácias, células vermelhas ou glóbulos vermelhos, são as células mais numerosas do sangue. Seu citoplasma é composto por 1/3 de hemoglobina e 2/3 de água e outras substâncias (MOROZ & VIEIRA, 2015).

Nos cães os eritrócitos maduros têm forma discoide, bicôncava, sem núcleo, com uma depressão central. Tal formato permite o aumento da superfície de contato, facilitando as trocas gasosas. A membrana plasmática eritrocitária é flexível o que permite a deformação e passagem das células pelos estreitos sinusóides do baço e de outros tecidos. À medida que a célula envelhece perde-se a flexibilidade impossibilitando de atravessar pelos vasos sinusóides do baço, onde fica retida e então é fagocitada pelo sistema monocítico fagocitário (SMF). A vida média de um eritrócito canino varia de 100 a 130 dias (REECE & SWENSON, 2006; MEDEIROS, 2013; MOROZ & VIEIRA, 2015).

A função básica dos eritrócitos é desempenhada pela hemoglobina, e consiste no transporte de oxigênio dos pulmões para o tecido e de gás carbônico do tecido para os pulmões (REECE & SWENSON, 2006; GUYTON & HALL, 2011).

### 2.2. Síntese e Metabolismo da Hemoglobina

A hemoglobina é um complexo proteína-ferro-protoporfirina que possui função fisiológica central na ligação, transporte e entrega de oxigênio aos tecidos. Aproximadamente 75% do ferro presente no organismo compõem as moléculas de hemoglobina no interior das células de linhagem eritróide, sendo assim as alterações nas concentrações deste mineral podem desencadear alterações hematológicas (CARVALHO et al., 2006; MEDEIROS, 2013).

A hemoglobina é composta por quatro cadeias polipeptídicas de globina e quatro núcleos prostético de heme. O heme é uma molécula única de protoporfirina IX ligada a um átomo de ferro. Cada molécula de hemoglobina pode carrear de forma reversível até quatro moléculas de oxigênio ou gás carbônico (MEDEIROS, 2013; MOROZ & VIEIRA, 2015).

A síntese de hemoglobina acompanha o desenvolvimento dos eritrócitos na eritropoese, começando nos rubriblastos e prosseguindo até o estágio de reticulócitos, apresentando concentrações diminuídas nos precursores mais jovens e mais elevadas nas células mais maduras. À medida que as células vão se diferenciando, elas se tornam menores e com concentrações de hemoglobina maior (MEDEIROS, 2013).

### 2.3. Eritropoiese

Os eritrócitos são formados através de um processo denominado eritropoese. Em condições normais de saúde, a eritropoese ocorre no interior da medula óssea, através de diferenciação e multiplicação das células tronco. Essa produção é controlada por um hormônio chamado eritropoetina (MOROZ & VIEIRA, 2015).

A eritropoietina é um hormônio produzido pelas células peritubulares renais, quando o corpo está sob efeito de hipóxia tecidual. A eritropoietina atua sobre a célula-tronco da medula óssea, determinando a sua divisão, com a produção da unidade formadora de colônia da linhagem eritrocitária (UFCe) (GARCIA-NAVARRO, 2005; GUYTON, 2011).

Quando ocorre perda de grande quantidade do volume sanguíneo, há redução do transporte de oxigênio para os tecidos, o que estimula a liberação de eritropoetina na corrente circulatória. A eritropoetina começa a ser formada dentro de alguns minutos a horas, e atinge sua produção máxima em 24 horas. Contudo quase nenhum novo

eritrócito é liberado na corrente circulatória nos cinco dias iniciais (KEER, 2003; GUYTON & HALL, 2011).

O principal efeito da eritropoetina consiste na estimulação da produção de rubriblastos a partir das células-tronco hematopoética na medula óssea. Além disso, uma vez formados os rubriblastos, a eritropoetina também estimula a diferenciação mais rápida dessas células pelos diferentes estágios eritroblásticos e transporte para fora da medula óssea até que haja produção suficiente para carrear uma quantidade adequadas de oxigênio aos tecidos (KEER, 2003; GUYTON & HALL, 2011).

A produção e a maturação dos eritrócitos é um processo contínuo, mas que didaticamente pode ser dividido em seis etapas sucessivas a partir da UFCe, cada uma delas constituindo um tipo celular: rubriblastos, pró-rubríctos, rubríctos (ortocromáticos e policromáticos), metarrubríctos, reticulócitos e eritrócitos (STOCKHAM & SCOTT, 2011).

Quando a célula chega ao estágio de reticulócitos é que a medula óssea começa a liberar a célula para a circulação. Do estágio de UFCe até reticulócitos, o processo de multiplicação e maturação celular ocorre no interior da medula óssea (MEDEIROS, 2013).

Os reticulócitos são células eritróides imaturas que exibem RNA residual, estes por sua vez, se precipitam ao entrar em contato com corantes supra-vitais, como azul de metileno ou azulcresil brilhante formando retículos, palavra que dá origem ao seu nome. Eles são metabolicamente mais ativos que os eritrócitos maduros, possuindo aproximadamente 60% da hemoglobina de um eritrócito adulto e sendo liberados da medula óssea pela ação da eritropoietina (LOPES et al., 2006; MEDEIROS, 2013).

Os reticulócitos podem ficar na medula óssea por dois a três dias e então são normalmente liberados para a circulação por diapedese através das células endoteliais

que revestem os sinusóides da medula, devido à ação estimuladora da eritropoietina em resposta à hipóxia tecidual (D'AVILA, 2011).

Após serem liberados da medula óssea, os reticulócitos maturam em eritrócitos em 24 a 48 horas na circulação ou no baço onde eles podem ser sequestrados temporariamente (LOPES et al., 2006; D'AVILA, 2011, STOCKHAM & SCOTT, 2011).

A contagem de reticulócitos é realizada para obter informação sobre a integridade funcional da medula óssea, porque reflete sua atividade eritropoética. O aumento no número de reticulócitos circulantes, conhecido como reticulócitose, ocorre em pacientes anêmicos com medula óssea funcional, incluindo pacientes com perda de sangue e hemólise ou que estejam sendo tratados para outras causas de anemia (PEREIRA et al., 2008; MEDEIROS, 2013).

Atualmente existem dois métodos de contagem de reticulócitos, o método manual e o método automático. O desenvolvimento de corantes fluorescentes específicos para RNA nos anos 80 propiciou o uso da citometria de fluxo na contagem de reticulócito, que realizam contagem mais precisa destas células e fornecem uma variedade de parâmetros tais como, volume, concentração de hemoglobina e maturidade celular (PEREIRA et al., 2008; D'AVILA, 2011).

No entanto, a metodologia manual é a mais utilizada, devido ao baixo custo em relação ao método automatizado, sendo este um empecilho para a utilização do método. Além disto, a contagem manual apesar de menos precisa, é considerada fidedigna na avaliação dos reticulócitos, sendo uma boa ferramenta para o diagnóstico de enfermidades associadas com reticulócitose ou não (D'AVILA, 2011).

No cão adulto, são encontrados normalmente, menos de 1% de reticulócitos, porém, em filhotes, o número pode alcançar 7% (LOPES et al., 2006).

O volume exercido pelos eritrócitos no sangue é denominado de volume globular (VG) sendo assim, o VG representa a percentagem de hemácias presentes no sangue, que fisiologicamente está entre 35 e 55% nos cães. Esse parâmetro também é conhecido pela técnica que o determina, hematócrito (Ht), do grego: hemaos sanguee krytos compactação (LASSEN & WEISER, 2007).

#### 2.4. Metabolismo do Ferro

Devido à contínua necessidade de reposição das hemácias, as células eritropoéticas da medula óssea estão entre as células de mais rápido crescimento e reprodução de todo o corpo. Assim sendo, sua maturação e intensidade de produção são afetadas por fatores nutricionais (GUYTON & HALL, 2011).

O ferro caracteriza-se por ser um metal de transição sendo necessário para várias funções biológicas, mas provavelmente a mais importante seja a produção das células vermelhas do sangue. Presente na hemoglobina, este mineral é de fundamental importância para o transporte de oxigênio e dióxido de carbono, essenciais à respiração celular aeróbica, além de fazer parte das moléculas de mioglobina nos músculos e dos citocromos no fígado. Uma inadequada concentração deste mineral no organismo afeta diretamente a divisão celular além de levar a formação de células eritrocitárias imaturas. (CARVALHO et al., 2006; GROTTTO, 2008; WEISS, 2010; GUYTON & HALL, 2011; TOSO, 2014).

Sua síntese é controlada rigorosamente por mecanismos enzimáticos e de degradação, pois o acúmulo de ferro é extremamente nocivo para os tecidos, uma vez que o ferro livre promove a síntese de espécies reativas de oxigênio que são tóxicas e lesam proteínas, lípidos e o DNA causando graves lesões celulares e teciduais (GROTTTO, 2008; GROTTTO, 2010).



Em humanos, a absorção do ferro ocorre no duodeno proximal. O processo se inicia a partir do fígado que secreta quantidades moderadas de apotransferrina na bile, que flui pelo ducto biliar até o duodeno. No intestino delgado, a apotransferrina se liga ao ferro livre e essa combinação é denominada transferrina. A transferrina é atraída e se liga a receptores na membrana das células epiteliais intestinais, e pelo processo de pinocitose, é absorvida pelas células epiteliais e posteriormente liberada para os capilares sanguíneos (GUYTON & HALL, 2011).

Quando o ferro é absorvido pelo intestino delgado, ele imediatamente se combina, no plasma sanguíneo, com a apotransferrina para formar a transferrina que é em seguida transportada pelo plasma. O ferro na transferrina é lábil, desfazendo-se facilmente na medula óssea, onde passa para os precursores nucleados dos eritrócitos, passando a ser utilizado na síntese de hemoglobina (GARCIA-NAVARRO, 2005; GUYTON & HALL, 2011).

Alguns fatores favorecem a absorção intestinal, como o ácido clorídrico estomacal e a presença de agentes solubilizantes como os açúcares, que reduzem os compostos férricos ( $\text{Fe}^{3+}$ ), transformando-os em ferroso ( $\text{Fe}^{2+}$ ) (GROTTO, 2008; GROTTO, 2010).

A absorção de ferro no intestino é extremamente lenta, e em situações normais a capacidade de absorção é de apenas alguns miligramas por dia. Isso significa que mesmo quando grande quantidade de ferro está presente na dieta, somente pequena proporção pode ser absorvida (GUYTON & HALL, 2011).

A quantidade de ferro absorvida é regulada pela necessidade do organismo. Assim, em situações em que há falta de ferro ou aumento da necessidade, ocorrerá maior absorção deste elemento (GROTTO, 2008).

No citoplasma das células, o ferro em excesso se combina com a proteína apoferritina, formando a ferritina, sendo essa a forma de reserva do ferro rapidamente

utilizável. Uma vez a capacidade máxima de reserva atingida e havendo sobrecarga de ferro no organismo, o mesmo é depositado no citoplasma dos macrófagos do sistema monocítico fagocitário (SMF), sob a forma de hemossiderina (WEISS, 2010; GUYTON & HALL, 2011).

Quando a quantidade de ferro no plasma diminui, parte do ferro no depósito de ferritina é mobilizada com facilidade e transportada sob a forma de transferrina pelo plasma para as áreas do corpo onde há necessidade (GUYTON & HALL, 2011).

Em condições normais, quando não ocorre perdas sanguíneas ou gestação, a quantidade de ferro presente no organismo é preservada, sendo que somente uma pequena quantidade é perdida ao dia (CARVALHO et al., 2006).

Ao contrário de outros minerais, a absorção do ferro é regulada pelas necessidades do organismo, correspondendo ao grau de eritropoese existente no momento. A deficiência de ferro prejudica a maturação e liberação de eritrócitos não sendo possível a produção ideal destas células (STOCKHAM & SCOTT, 2011).

## 2.5. Demais Substâncias Eritropoiéticas

Além do ferro, algumas vitaminas são essenciais para o processo de formação dos glóbulos vermelhos. A vitamina B<sub>12</sub> (cianocobalamina) e o ácido fólico (vitamina B<sub>9</sub>) são necessárias à medula óssea para o processo de formação e maturação dos eritrócitos (REECE & SWENSON, 2006; GUYTON & HALL, 2011).

O cobalto é o componente essencial da vitamina B<sub>12</sub> que contém 4,5% desse mineral. Os microorganismos do tubo digestivo são capazes de sintetizar a B<sub>12</sub> desde que a dieta contenha concentrações adequadas de cobalto. Em monogástricos a deficiência de cobalto não ocorre, havendo em condições específicas, a possibilidade de deficiência de B<sub>12</sub>. Este fato decorre por uma menor ingestão da vitamina e redução na síntese pelos microorganismo do intestino (ANTUNES, 2010).

A vitamina B<sub>12</sub> é necessária para o metabolismo normal de folato, portanto a deficiência de vitamina B<sub>12</sub> e ácido fólico levam a alterações hematológicas semelhantes (HARVEY, 2008).

A vitamina B<sub>12</sub> e o ácido fólico são essenciais para à síntese de DNA, visto que cada uma delas, por modos diferentes, é necessária para a formação do trifosfato de timidina, uma das unidades essenciais da produção de DNA. Por conseguinte, a deficiência de cianocobalamina (vitamina B<sub>12</sub>) ou ácido fólico (vitamina B<sub>9</sub>) resulta em diminuição do DNA e consequente falha da maturação nuclear e divisão celular (REECE & SWENSON, 2006; GUYTON & HALL, 2011).

A medula óssea de animais com deficiência dessas vitaminas além de não conseguir regenerar com rapidez, produzem hemácias com membranas muito frágeis, irregular e ovalada em vez do formato bicôncavo usual. Essas células são capazes de transportar normalmente oxigênio, porém sua fragilidade faz com que tenham sobrevida curta, de metade a um terço do normal (GUYTON & HALL, 2011).

Outras vitaminas do complexo B, tais como a riboflavina, a tiamina e a nicotinamida também ajudam na eritropoiese. Quando essas vitaminas são deficientes, o crescimento e desenvolvimento dos eritrócitos ficam prejudicados (REECE & SWENSON, 2006; GUYTON & HALL, 2011).

## 2.6. Medicina de Transfusão

A transfusão sanguínea também chamada de hemoterapia é uma forma de transplante autólogo, na qual se realiza a transferência do sangue total ou dos produtos sanguíneos de um indivíduo doador para um receptor, visando corrigir temporariamente uma deficiência ou disfunção (PEREIRA & RAMALHO, 2001; MOROZ & VIEIRA, 2015).

A hemoterapia é indicada em casos de anemias graves, reposição do volume sanguíneo, restauração da capacidade de transporte de oxigênio aos tecidos, melhoria da imunidade ou correção de distúrbios de coagulação (COSTA JR et al., 2008; MOROZ & VIEIRA, 2015).

No Brasil os estudos na área de hemoterapia veterinária são escassos. Em 1968, iniciaram-se os estudos para instalação de banco de sangue veterinário no Brasil, porém, o primeiro banco de sangue surgiu somente em 1998. No entanto para o clínico veterinário é de suma importância a existência de bancos de sangue veterinários, pois facilita a obtenção do sangue de qualidade a ser utilizado em situações de emergência (MOROZ & VIEIRA, 2015).

Assim como em outras terapias clínicas, os riscos potenciais da transfusão devem ser ponderados, e todo o esforço deve ser feito para fornecer uma transfusão segura por meio de seleção adequada dos doadores, tipagem sanguínea destes, coleta e armazenamento apropriado das bolsas e reação cruzada do sangue antes de cada transfusão (LACERDA, 2005).

As informações quanto à quantidade de sangue a ser coletada de cada doador relacionada ao intervalo de tempo entre as doações variam pouco entre os pesquisadores.

Segundo Feldman & Sink (2007), cães pesando pelo menos 23 kg são capazes de doar 450 ml de sangue a cada 21 a 28 dias, segundo o mesmo autor um cão pode doar um máximo de 22 ml/kg; já Vap & Brown (2007), afirmam que os cães podem doar de 13 a 17 ml de sangue/kg de peso corporal, em intervalos de três a quatro semanas. Lacerda (2005) afirma que cães podem doar de 16 a 18 ml/kg a cada três a quatro semanas, devendo ter pelo menos 28 kg. Segundo Schneider (1995) os cães que doam grandes volumes regularmente deverão receber suplementação nutricional e serem monitorados para possíveis efeitos adversos.

A coleta de sangue para transfusão em cães pode ser realizada com bolsas de coleta e armazenamento de sangue humano. O local de eleição para a coleta é a veia jugular. Antes da doação deve-se realizar a tricotomia e antissepsia do local. A bolsa de sangue deve ser constantemente homogeneizada durante todo o procedimento de coleta para evitar a formação de coágulos, sendo que todo o processo de coleta deve durar de 5 a 15 minutos (BABO, 1998; KERR, 2003; LACERDA, 2005; FELDMAN & SINK, 2007).

O armazenamento do sangue total e do concentrado de eritrócitos deve ser realizado sob refrigeração de 1 a 6° C, já os derivados do plasma devem ser armazenados em congelador com temperaturas inferiores a - 18° C. Deve-se ter atenção com relação aos prazos de validade dos conteúdos das bolsas, o que varia de acordo com cada hemocomponente e em qual solução conservadora é armazenada (PEREIRA & RAMALHO, 2001; FELDMAN & SINK, 2007; COSTA JR et al., 2008).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo geral**

Determinar o período mínimo de recuperação do hematócrito de cães doadores de sangue para novas doações, sem comprometimento à saúde, além de avaliar a influência da suplementação com ferro e vitaminas hematopoiéticas na formação e maturação dos eritrócitos.

#### **3.2. Objetivos específicos**

- a) Determinar o período mínimo de recuperação do hematócrito inicial de cães doadores após múltiplas doações.
- b) Avaliar a resposta reticulocitária durante o tempo de recuperação do hematócrito.
- c) Avaliar a influência da suplementação com ferro e vitaminas do complexo B na recuperação do hematócrito e na resposta reticulocitária após as doações de sangue.

## 4. METODOLOGIA

### 4.1. Animais

Foram utilizados 10 (dez) cães adultos, com idade variando entre 2 e 5 anos, de ambos os sexos, sendo 5 machos e 5 fêmeas, com peso variando entre 25 e 30 kg, de comportamento dócil, com hematócrito igual ou superior a 40% e em boas condições de saúde, atestado pelo exame físico, hemograma completo, bioquímica renal e hepática, além de negativos para erliquiose, anaplasmose e babesiose por método imunocromatográfico, brucelose (imunodifusão em ágar gel) e leishmaniose (ELISA e imunofluorescência indireta), além dos protocolos vacinal e de vermifugação atualizados.

Os animais foram separados de forma aleatória em dois grupos, contendo cinco animais em cada grupo conforme segue:

Grupo 1(G<sub>1</sub>): Cães que não receberam suplementação de vitaminas e minerais, além das contidas na alimentação.

Grupo 2(G<sub>2</sub>): Cães que receberam, além da alimentação padrão, a adição de suplemento à base de ácido fólico, ácido nicotínico, cobalto, cobre, ferro quelado, pantotenato de cálcio (B<sub>5</sub>), tiamina (B<sub>1</sub>), riboflavina (B<sub>2</sub>), piridoxina (B<sub>6</sub>), vitamina C, vitamina K<sub>3</sub>, cianocobalamina (B<sub>12</sub>) e zinco.

A suplementação do G<sub>2</sub> foi iniciada imediatamente após cada doação e interrompida quando os mesmos atingiam o hematócrito inicial.

Todos os animais foram provenientes do grupo de cães doadores de sangue do Hospital Veterinário da UFV.

### 4.2. Coleta das Bolsas de Sangue

Os doadores foram conduzidos ao ambulatório clínico do Hospital Veterinário do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa (DVT/UFV), Viçosa-MG. Previamente ao procedimento de coleta, os animais foram posicionados em decúbito lateral, contidos manualmente e realizada a tricotomia e antissepsia do local com álcool 70%. A venopunção foi realizada na veia jugular.

De cada animal foram coletados 16 mL/kg de sangue total, utilizando uma balança para precisar o volume doado, e armazenado em bolsas plásticas contendo citrato fosfato dextrose adenina (CPDA-1). As bolsas de sangue coletadas foram encaminhadas para o Setor da Clínica Médica e Cirúrgica de Pequenos Animais do Hospital Veterinário da UFV para utilização na rotina. Após o procedimento de coleta,

foram respeitados todos os procedimentos para estabilização do paciente e facilitar hemostasia no local.

Foram realizadas três coletas em intervalos de quinze dias, quando se espera a recuperação do hematócrito aos valores pré-doação. Segundo VALENTE (2009), os animais recuperam o volume sanguíneo inicial em 10 a 12 dias após a doação, tendo porém avaliado somente uma doação. As coletas das bolsas de sangue seguiram o protocolo estabelecido no quadro 1.

Quadro 1: Protocolo de doação.

Doação 1	Doação 2	Doação 3
Dia zero	15 dias após a primeira doação	30 dias após a primeira doação

#### 4.3. Análises laboratoriais

As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Patologia Clínica Veterinária do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa (DVT/UFV). As coletas de sangue foram realizadas diariamente sendo os animais submetidos à contenção física e as amostras acondicionadas em tubos com EDTA.

O hematócrito foi realizado por meio da técnica de micro hematócrito, como descrita por Stockham & Scott (2011). O mesmo foi realizado antes da doação ( $T_0$ ) e imediatamente após ( $T_1$ ), sendo monitorado diariamente, a fim de acompanhar o comportamento do hematócrito até os níveis prévios à coleta.

Também foi realizada contagem diária de reticulócitos. As contagens de reticulócitos foram realizadas por técnica manual em microscopia ótica, conforme descrito por Lassen e Weiser (2007). Volumes iguais (100  $\mu$ L) de sangue total e azul cresil brilhante foram homogeneizados em tubos de ensaio e mantidos em banho maria a 37°C durante 15 minutos. Após este período, foi realizado esfregaço sanguíneo convencional. Depois de seca, a lâmina foi contra corada com panótico rápido para facilitar a visualização dos reticulócitos. A determinação do percentual de reticulócitos foi realizada por contagem de 1000 eritrócitos, classificando-os como reticulócitos ou células adultas. A contagem absoluta de reticulócitos foi obtida através da multiplicação do percentual de reticulócitos pela contagem de eritrócitos, sendo estes obtidos através do analisador hematológico automático Humacount plus®.

Antes de cada doação e após a recuperação do animal, foram realizadas as seguintes análises com o objetivo de acompanhar a saúde dos animais:



- Hemograma completo
- Contagem de reticulócitos
- Ferro sérico
- Uréia
- Creatinina
- AST (Aspartatoaminotransferase)
- ALT (Alanina aminotransferase)
- Proteína Sérica Total
- Albumina

#### 4.4. Análises dos dados

Os valores de hematócrito em  $T_0$  e  $T_1$  foram submetidos ao teste de Wilcoxon para avaliar se houve diminuição desses valores imediatamente após a coleta. O hematócrito foi ainda avaliado por ANOVA para medidas repetidas com dois fatores, doação e dia de coleta, para cada tratamento, para determinar em que momento o hematócrito atinge valores significativamente crescentes. As taxas de redução do hematócrito e a taxa de aumento de reticulócito, os dias em que foram observados os menores níveis de hematócrito e os maiores níveis de reticulócitos, e o dia de recuperação do hematócrito também foram avaliados pelo teste ANOVA para dois fatores, considerando o tratamento e a doação como variáveis independentes. Em caso de significância, foi procedido o teste de Tukey. Todos os testes foram realizados no programa SigmaPlot 11.0, considerando 5% de nível de significância.

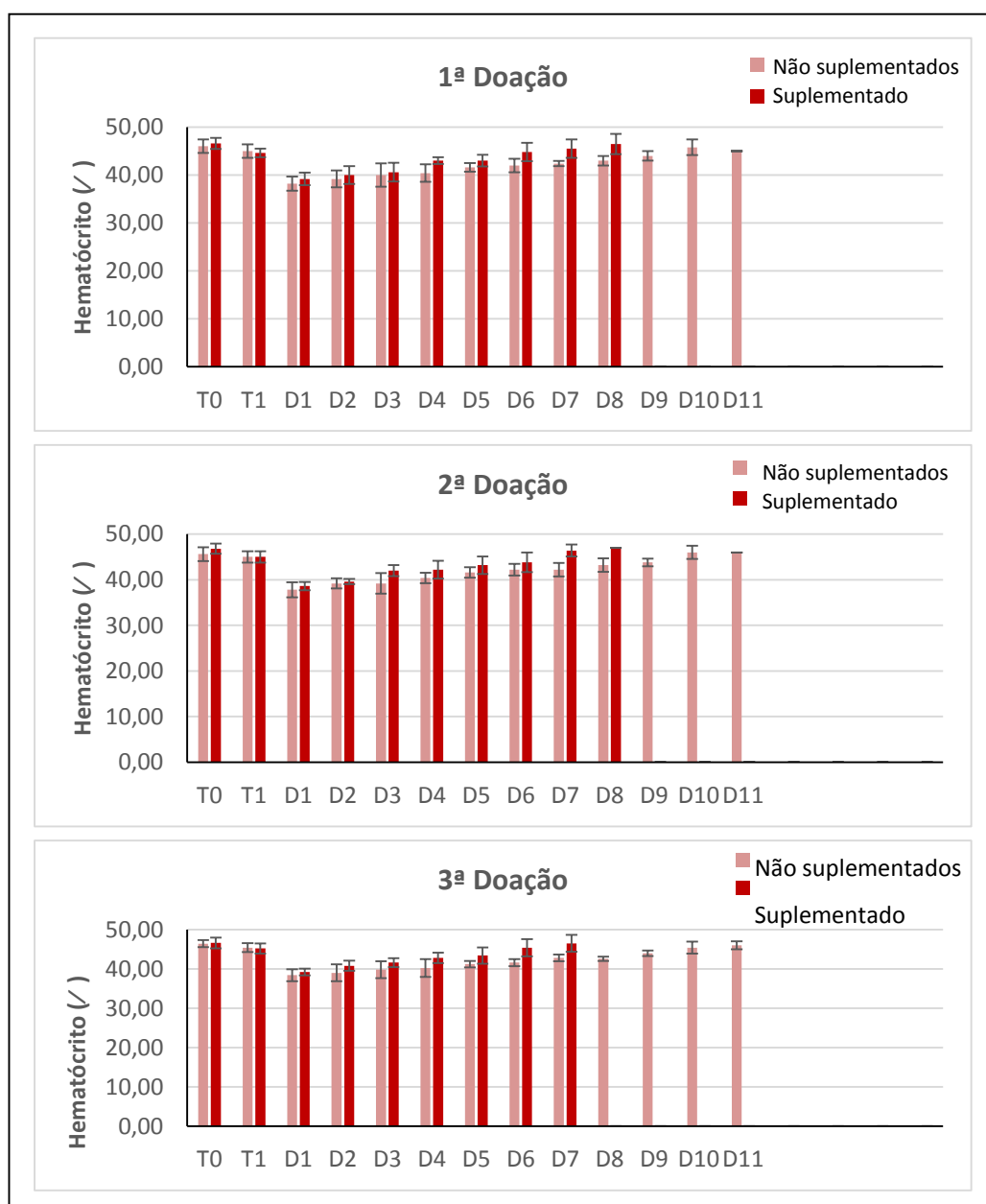
#### 4.5. Aspectos éticos da pesquisa

Todos os procedimentos foram realizados seguindo as resoluções do Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV) e do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), sendo o experimento registrado e aprovado pela Comissão de Ética

na Experimentação Animal da Universidade Federal de Viçosa (CEUA/UFV), sob o número 30/2014.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após análise dos resultados foi observada redução de até 2% do hematócrito de  $T_0$  para  $T_1$  ( $p < 0,001$ ) nas três doações (respectivamente  $p = 0,002$ ,  $p = 0,008$  e  $p = 0,008$ ), no entanto a redução máxima do hematócrito só pode ser observada após 24 horas, não havendo para este fator interferência do tratamento ou doação (Figura 1, Anexo1).



**Figura 1:** Representação gráfica do comportamento do hematócrito no decorrer do tempo, nas três doações.

A diminuição o hematócrito de  $T_0$  para  $T_1$  pode ser explicado pela ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona, onde após a queda da pressão arterial ocasionada pela retirada de sangue, ocorre a ativação de uma enzima denominada renina. A renina age enzimaticamente sobre o angiotensinogenio liberando angiotensina I, alguns segundos após a liberação de angiotensina I, dois aminoácidos são removidos da angiotensina I, formando a angiotensina II. A angiotensina II promove vasoconstrição e diminui a excreção de sal e água pelos rins, elevando o volume de liquido extravascular, e devido à absorção de líquidos pelos vasos leva a uma hemodiluição, justificando a redução do hematócrito.

Outra explicação para tal redução consiste na interação das forças de Starling, onde após uma perda aguda de considerado volume de sanguíneo, ocorre queda da pressão arterial fazendo com que ocorra a translocação de líquidos do interstício para os capilares, ocasionando hemodiluição com consequente redução do hematócrito.

Segundo Alves et al. (2008), apesar da expansão vascular ocasionada pela hemodiluição ocorrer lentamente, os fluidos extravasculares começam a ser mobilizados para o espaço intravenoso poucos minutos após a perda aguda de sangue. Isso explicaria o fato de apesar da redução máxima do hematócrito ter sido observada em 24 horas, haver uma redução pequena, porém significativa logo após a doação.

Esse achado não corrobora com os relatados por Tvedten & Weiss (1999), Glick Wilson & Aiello (2002), Valente (2009) e Guyton & Hall, 2011, que afirmam que o hematócrito não sofre alteração na primeira hora após a perda aguda de sangue.

Os cães deste estudo doaram o equivalente a 16 ml/kg ou aproximadamente 20% do volume sanguíneo, e apresentaram queda do volume sanguíneo de aproximadamente 8% em ambos os grupos após as três doações.

Durante análise de recuperação do hematócrito no decorrer dos dias, observou-se que o grupo dos animais não suplementados apresentou o inicio de recuperação do

hematócrito no quarto dia, na primeira e na segunda doação, porém na terceira doação essa recuperação inicia somente no quinto dia ( $p < 0,001$ ). Já o grupo dos animais suplementados apresentou o início de recuperação no quarto dia após primeira coleta, porém na segunda e terceira doação a recuperação iniciou no terceiro dia ( $p < 0,001$ ).

Após uma perda aguda de grande volume de sangue, há redução no transporte de oxigênio para os tecidos estimulando dessa forma a liberação de eritropoetina na corrente circulatória. Essa por sua vez é responsável pela regulação da eritropoese, estimulando dessa forma a produção de novos eritrócitos. Este estímulo é iniciado dentro de poucos minutos a horas, e atinge sua produção máxima em 24 horas, contudo novo eritrócito são observados na forma de reticulócitose a partir de 48 a 96 horas após a perda sanguínea (KEER, 2003; GUYTON & HALL, 2011; LACERDA & HLAVAC, 2015). Estas informações diferem do presente estudo que observou significativa recuperação do hematócrito no quarto dia para ambos os grupos, e a partir da segunda coleta, o grupo suplementado passou a recuperar o Ht no terceiro dia.

O Grupo suplementado e o grupo não suplementado obtiveram início de recuperação juntos no quarto dia, isso se deve provavelmente ao fato de os animais do grupo suplementado só terem começado a receber suplementação após a primeira doação, estando desta forma em paridade com o grupo não suplementado, a partir de então o grupo suplementado obtém resposta otimizada em relação ao grupo não suplementado, demonstrando efeito da suplementação.

A diferença no tempo de início de recuperação do grupo não suplementado observada neste estudo é sugestivo de desgaste medular, uma vez que na primeira e na segunda doação o início da recuperação se deu, de maneira significativa, no quarto dia, e na terceira doação se inicia somente no quinto dia. Em contrapartida, o grupo dos animais que receberam suplementação apresentou, após primeira doação, início significativo da recuperação, no quarto dia. Porém, na segunda e terceira doações esse

início se deu no terceiro dia, mostrando que houve otimização da recuperação. Tal condição provavelmente foi influenciada pela presença das vitaminas B<sub>9</sub> e B<sub>12</sub> que atuam no processo de maturação celular, podendo acelerar o mesmo.

Na análise do tempo de recuperação do hematócrito foi observado que os cães não suplementados recuperaram o volume sanguíneo após 10 dias da doação, diferentemente dos cães suplementados que recuperaram o hematócrito inicial sete dias após.

A diferença no tempo de recuperação dos grupos suplementados para os não suplementados pode ser explicada devido à disponibilidade de ferro e outros nutrientes presente no suplemento, uma vez que o ferro é o componente essencial na formação da porção heme das moléculas de hemoglobina, principal componente das hemácias, desta forma a disponibilidade do ferro otimiza a resposta do organismo.

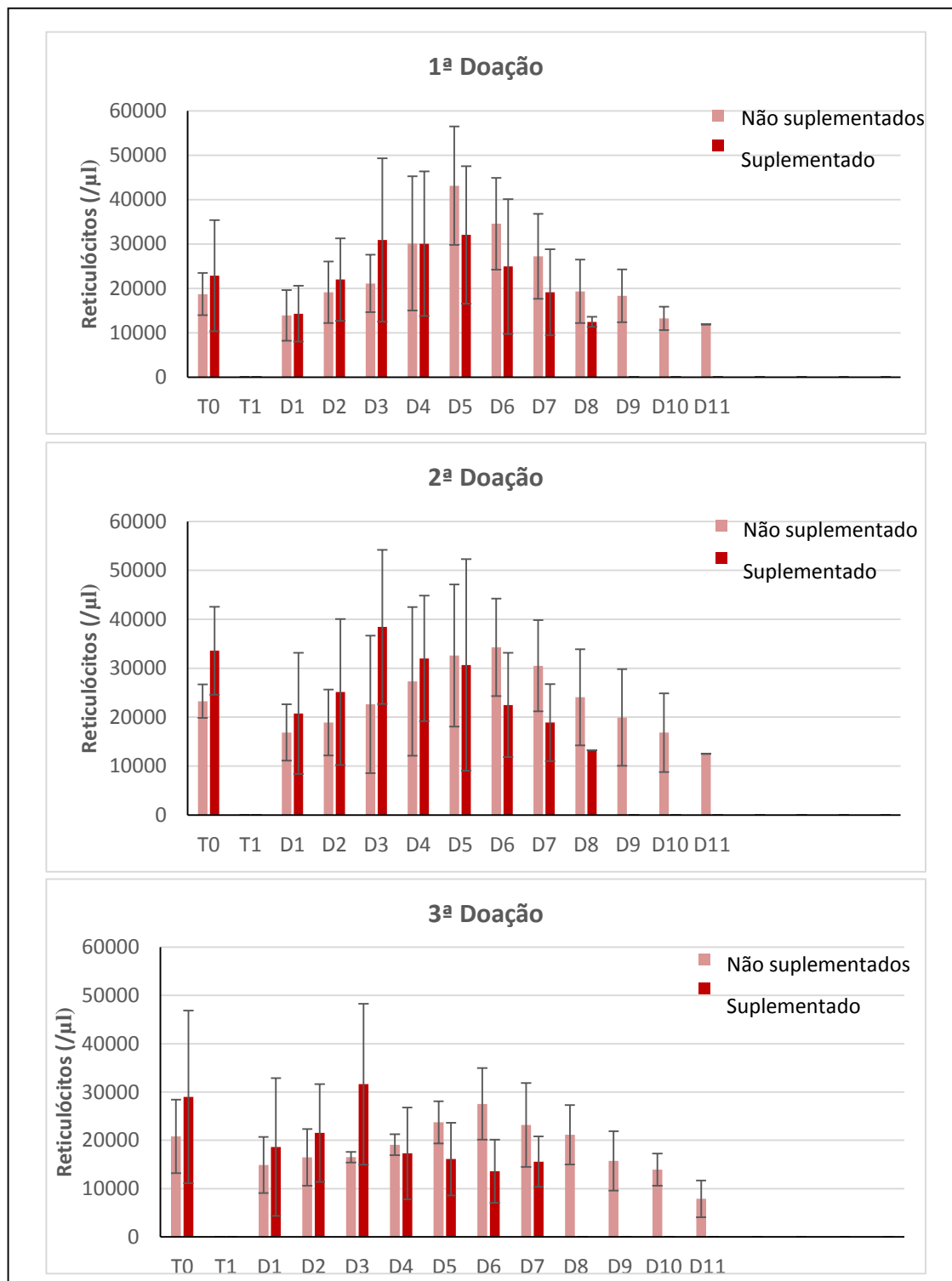
Segundo Guyton & Hall, 2011, em avaliações em humanos, quando grande quantidade de eritropoetina é liberada, se houver quantidade abundante de ferro e outros nutrientes, a produção eritrocitária pode aumentar em 10 vezes ou mais comparada à normal.

Além disso, sabe-se que as vitaminas B<sub>12</sub> e B<sub>9</sub> participam da produção e maturação dos eritrócitos. Desta forma, entende-se que, quando em abundância, estas vitaminas também possam auxiliar na aceleração da produção e maturação destes.

Este achado corrobora com Valente (2009) que afirmou que cães doadores, quando não suplementados, recuperam o hematócrito inicial após 10 dias da coleta.

Entretanto, este resultado contraria aos encontrado por Lacerda (2005), Honhenhaus (2007), Vap & Brown (2007), e Feldman & Sink (2007) que afirmam que cães doadores estão aptos a uma nova doação somente a partir da terceira ou quarta semana após a doação.

A análise dos reticulócitos mostrou que os animais que não receberam suplementação atingiram o pico de produção de reticulócitos entre o 5º e o 6º dia após, enquanto os animais que receberam suplementação atingiram o pico no 3º dia ( $p < 0,001$ ) (Figura 2, Anexo 2)



**Figura 2:** Representação gráfica do comportamento do Reticulócito no decorrer do tempo, nas três doações.

Segundo Stockham & Scott (2011), a resposta de reticulócitos não esta totalmente esclarecida, mas alguns autores relatam que o pico de produção pode ser observado antes do sétimo dia. Neste estudo o pico de produção de cães não suplementados foi observado no quinto dia. Já os animais suplementados obtiveram otimização deste resultado, sendo observado o pico de reticulócitos já no terceiro dia. Este achado pode ser explicado devido a influencia dos nutrientes hematopoiéticos, como a vitamina B<sub>12</sub> (cianocobalamina) e a vitamina B<sub>9</sub> (ácido fólico) que atuam na formação do DNA e poderiam otimizar a maturação nuclear assim como acelerar o processo de divisão celular das mesmas.

Os valores máximos de reticulócitos não foram afetados pelo tratamento ( $p=0,0942$ ). Entretanto, houve diminuição desses valores entre a segunda e a terceira doação e entre a primeira e a terceira doação para ambos os grupos ( $p = 0,008$ ).

Segundo Oliver (2010), em estado fisiológico, as células eritrocitárias demoram meses para completar seu processo de amadurecimento até a liberação de reticulócitos na corrente circulatória. O presente estudo mostrou redução dos valores absolutos de reticulócitos a partir da segunda doação, o que pode ser interpretado como diminuição da capacidade hematopoiética imediata da medula óssea.

Esse achado possivelmente se deve à redução da reserva medular, uma vez que as coletas eram realizadas a cada 15 dias não havendo tempo suficiente para produção do mesmo número de células que anteriormente. No entanto, Reece & Swenson (2006), afirmam que a eritropoetina estimula as células-tronco comprometidas, incluindo os rubriblastos, pró-rubríctos e rubríctos jovens, visando aumentar a sua atividade mitótica para a produção e liberação mais rápida de reticulócitos e eritrócitos maduros. Dessa forma, uma vez ocorrido a perda de 20% do volume sanguíneo, ocorre então a estimulação da liberação de eritropoetina através da hipoperfusão renal, levando a aceleração do processo de produção celular por parte da medula.

Seja pelo esgotamento da reserva medular ou pelo desgaste de produção da medula, o presente estudo mostrou que a capacidade hematopoiética sofre alteração, levantando a hipótese que futuras coletas em intervalos reduzidos poderiam levar a exaustão medular, fazendo com que a mesma não consiga manter a recuperação adequada, mesmo para animais suplementados.



## 6. CONCLUSÕES

Após a análise dos resultados obtidos e nas condições deste estudo, pode-se concluir que:

- A suplementação vitamínica acelera a recuperação do hematócrito.
- Imediatamente após o término da coleta de 16ml/kg, os cães apresentaram redução do hematócrito com nadir até 24 horas;
- O pico de reticulocitose ocorreu de forma mais precoce nos animais suplementados.
- Os valores absolutos de reticulócito sofreram redução na comparação entre as três coletas, porém sem interferir no tempo de recuperação do Ht para ambos os grupos;
- Os cães foram capazes de doar 16ml/kg, em três coletas com intervalos de 15 dias sem danos à saúde, porém demonstrando indícios de desgaste da produção hematopoiética;

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, K.H.G.; CARVALHO, C.C.D.; COLE, E. TEIXEIRA, M.N.; ATHAYDE, A.C.R.; SOARES, P.C. Dinâmica eritrocitária de cães induzidos a choque hipovolêmico e hemorrágico. 35º CONBRAVET. In: **Anais do 35º Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária**, 2008.

ANTUNES, M.S. 78f. 2010. **Pesquisa clínica e etiologia de anemia em cães**. Dissertação de Mestrado (Ciências Clínicas). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – Instituto de Veterinária.

BABO, V.J. Transfusão sanguínea em cães e Gatos – **Revista Clínica veterinária**, Ano III, n.14, p.28-32, 1998.

CARVALHO, M.C.; BARACAT, E.C.E.; SGARBIERI, V.C. Anemia ferropriva e anemia de doença crônica: distúrbio do metabolismo de ferro. **Segurança alimentar e nutricional**, v.13, n.2, p. 54 – 63, 2006.

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

D’AVILA, A.E.R. 59f. 2011. **Parâmetros hematológicos e classificação de anemia em uma população de cães atendidos no lacvet – UFRGS**. Monografia (Especialização em Residência Médica em Patologia Clínica Veterinária). Universidade federal do rio grande do sul - Faculdade de veterinária.

FELDMAN, B.F.; SINK, C.A. **Hemoterapia para o clínico de pequenos animais**. 1ed, Roca., 2007, 104p.

GARCIA-NAVARRO, C.E.K. **Manual de hematologia veterinária**. 2ed, São Paulo, Varela, 2005, 206p.

GLICK, Y.A.; WILSON, L.D.; AIELLO, J. Hematocrit and metabolic changes caused by varied resuscitation strategies in canine model of hemorrhagic shock. **American journal of emergency medicine.**, v.20, n.4, p.303-309, 2002.

GROTTO, H. Iron metabolism: an overview on the main mechanisms involved in its homeostasis. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v.30, n.5, p. 390-397, 2008.

GROTTO, H. Fisiologia e metabolismo do ferro. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v.32, suppl.2, p.08-17, 2010.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 12 ed, Elsevier, 2011, 1101p.

HARVEY, J.W. The Erythrocyte: Physiology, Metabolism, and Biochemical Disorders. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 7ed, Elsevier, 2008, 915p.

HONHENHAUS, A.E. Bancos de sangue e clínica de transfusão. In: ETTINGER, E.J.; FELDMAN, E.C. **Tratado de Medicina Interna de Pequenos Animais**. 5ed, v.1. Manole, p.366-375, 2004.

HOHENHAUS, A.E.; Transfusão e substitutos do sangue In: DIBARTOLA, P.S. **Anormalidades de fluidos, eletrólitos e equilíbrio ácido-básico**. 3 ed. Roca, 2007, p.549 – 565.

LACERDA, L. Transfusão sanguínea em veterinária: desafio e vencer In: Gonzalez, F.H.D., SANTOS, A.P. Simpósio de Patologia Clínica. In: **Anais do II Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p. 62-81, 2005.

LACERDA, L.A.; HLAVAC, N.R.C Anemias Regenerativas. In: JERICÓ, M.M.; NETO, J.P.A.; KOGIKA, M.N. **Tratado de Medicina Interna de Cães e Gatos**. Vol.2., Roca, 2015, p. 1903-1931.

LANEVSKI, A.; WARDROP, J. Principles of transfusion medicine in small animals. **Can Vet Journal**, v.42, n.6, p. 447-453, 2001.

LASSEN, E.D.; WEISS, G. Princípios gerais sobre exames e diagnósticos laboratoriais. In: THRALL, M.A. **Hematologiae bioquímica clínica veterinária**. 2 ed. Roca, p.558, 2007.

LOPES, S.T.A.; MACIEL, R.M.; FRANCISCATO, C.; EMANUELLI, M.P.; RIVERA, R.S.; MAZZATI, A.; TEIXEIRA, L.V. Reticulócitos e hematócrito de cães pré e pós esplenectomia parcial. **Ciência Rural**, v.36, n.3, p.1000-1003, 2006.

LUCAS, R. L. et al. Collection and preparation of blood products. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v.19, n.2, p.55-62, 2004.

KERR, M.G. **Exames laboratoriais em medicina veterinária: bioquímica clínica e hematologia**. 2 ed. Roca, São Paulo, 2003, 436p.

MEDEIROS, N.C. 73f. 2013. **Resposta da medula óssea e o metabolismo do ferro em cães com anemias de diferentes etiologias**. Dissertação de mestrado da Universidade Federal do Paraná – Setor de Ciências Agrárias.

MOROZ, L.R.; VIEIRA, J. Transfusão sanguínea em cães. In: JERICÓ, M.M.; NETO, J.P.A.; KOGIKA, M.N. **Tratado de Medicina Interna de Cães e Gatos**. Vol.2., Roca, 2015, p. 1903-1931.

OLIVER, C.S. Erythropoiesis. In: WEISS, D.J.; WARDROP, K.J. **Schalm Veterinary Hematology**. 6 ed, hardcover, 2010, 1231p.

PEREIRA, M. P.; RAMALHO, S. F.; Transfusão sanguínea – **Revista clínica veterinária**, ano VI, n.34, p.34-40. 2001.

PEREIRA, P.M.; SEKI, M.C.; PALMAS, P.V.B.; MORAIS, F.R.; SANTANA, A.E.; PEREIRA, G.T. Contagem de reticulócitos de cães saudáveis ou anêmicos pela

citometria de fluxo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.1, p.66-70, 2008.

REECE. W.O.; SWENSON. M. J. Composição e função do sangue In: Reece. W.O. **Fisiologia dos animais domésticos**. 12 ed, Guanabara Koogan., 2006, 926p.

SCHNEIDER, A. Blood componentes: collection, processing and storege. **Veterinary Clinic of North American Small Animal Practice.**, v.25, n.6, p.1245-1261, 1995.

STOCKHAM, S.L.; SCOTT. M.A. **Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária**. 2ed,Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011, 744p.

TOSO, M.R. 32f. 2014. **Anemia da doença crônica**. Monografia (Curso de Medicina Veterinária). Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Faculdade de Veterinária.

TVEDTEN, H; WEISS, D. Erythrocytedisorders. In: WILLARD,M.D.; TVEDTEN, H.;TURNWALD,G.H. **Small animal clinical diagnosis by laboratory methods**. 3ed, Company, WB SAUNDERS, 1999, p.31-51.

VALENTE, J.S. 19f. 2009. **Estudo de Hematócrito e da proteína total de cães após doação de sangue**. Monografia (Curso de Medicina Veterinária). Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde-UNIVIÇOSA.

VAP, L.; BROWN, D. Princípios sobre transfusão sanguínea e reações cruzadas. In: THRALL, M.A. **Hematologia e bioquímica clínica Veterinária**, 2ed,Roca, 2007, 558p.

WEISS, D.J.Iron and Copper Deficiencies and Disorders of Iron Metabolism. In: WEISS, D.J.; WARDROP, K.J. **Schalm Veterinary Hematology**. 6 ed, hardcover, 2010, 1231p.

## ANEXO I

		Hematócrito (✓)	T0	T1	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4	Dia 5	Dia 6	Dia 7	Dia 8	Dia 9	Dia 10			
		<b>Não Suplementados</b>		<b>1º Coleta</b>	Media	46	45	38,2	39,2	40	40,4	41,6	42	42,4	43	44	45,8
Desvio Padrão	1,41				1,41	1,48	1,79	2,45	1,82	0,89	1,41	0,55	1,0	1,0	1,64		
<b>2º Coleta</b>	Media			45,6	45	37,8	39,2	39,2	40,4	41,6	42,2	42,2	43,2	43,8	46		
	Desvio Padrão			1,52	1,22	1,64	1,10	2,28	1,14	1,14	1,30	1,48	1,48	0,84	1,41		
<b>3º Coleta</b>	Media			46,4	45,4	38,4	39	39,8	40,2	41,2	41,6	42,8	42,6	44	45,4		
	Desvio Padrão			0,89	1,14	1,52	2,12	2,17	2,28	0,84	0,89	0,84	0,55	0,71	1,52		
<b>Suplementados</b>				<b>1º Coleta</b>	Media	46,6	44,6	39,2	40	40,6	43	43	44,8	45,5	46,5		
					Desvio Padrão	1,14	0,89	1,30	1,87	1,95	0,71	1,22	1,92	1,91	2,12		
				<b>2º Coleta</b>	Media	46,8	45	38,6	39,6	42	42,2	43,2	43,8	46,4			
					Desvio Padrão	1,10	1,22	0,89	0,55	1,22	1,92	1,92	2,17	1,34			
				<b>3º Coleta</b>	Media	46,6	45,2	39,2	40,8	41,6	42,8	43,4	45,4	46,5			
					Desvio Padrão	1,34	1,30	0,84	1,30	1,14	1,30	2,07	2,19	2,12			

**Tabela 1:** Demonstração das médias e desvios padrão do hematócrito (%) nos dias, durante as três coletas e nos dois grupos.

## ANEXO 2

		Reticulócitos (/μL)	T0	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4	Dia 5	Dia 6	Dia 7	Dia 8	Dia 9	Dia 10
<b>Não Suplementados</b>	<b>1º Coleta</b>	Media	18.722	13.900	19.120	21.098	30.138	43.140	34.578	27.232	19.320	18.312	11.900
		Desvio Padrão	4740,77	5702,28	6948,57	6480,92	15142,37	13345,17	10339,56	9590,13	7154,02	5949,90	2646,42
	<b>2º Coleta</b>	Media	23.272	16.868	18.914	22.618	27.320	32.614	34.270	30.520	24.060	19.920	16.830
		Desvio Padrão	3407,57	5761,23	6735,19	14057,67	15194,72	14524,62	9962,38	9302,26	9823,87	9880,90	8029,58
	<b>3º Coleta</b>	Media	20.814	14.874	16.442	16.494	19.072	23.708	27.524	23.182	21.162	15.732	13.928
		Desvio Padrão	7601,75	5790,79	5860,78	1093,75	2179,20	4372,95	7422,73	8686,97	6140,76	6166,16	3327,75
<b>Suplementados</b>	<b>1º Coleta</b>	Media	22.864	14.284	21.990	30.894	30.076	32.052	24.924	19.137,50	12.460		
		Desvio Padrão	12507,73	6295,75	9305,40	18418,41	16286,56	15512,60	15168,03	9704,83	1131,37		
	<b>2º Coleta</b>	Media	33.576	20.768	25.140	38.428	32.000	30.658	22.486	18.894			
		Desvio Padrão	9000,60	12404,58	14939,97	15738,17	12823,89	21621,62	10673,28	7866,78			
	<b>3º Coleta</b>	Media	28.978	18.618	21.526	31.604	17.286	16.096	13.584	15.570			
		Desvio Padrão	17889,12	14256,60	10120,04	16668,78	9495,32	7549,06	6539,06	5218,45			

**Tabela 2:** Demonstração dos valores de média e desvio padrão da contagem de reticulócitos (/μL) nos dias, durante as três coletas e nos dois grupos.