

PADRONIZAÇÃO DOS VALORES DE REFERÊNCIA DE MARCADORES HEPÁTICOS E RENAIIS EM RATOS FÊMEAS DA LINHAGEM WISTAR PROVENIENTES DO BIOTÉRIO DA FACULDADE SANTA MARIA

STANDARDIZATION OF THE REFERENCE VALUES OF HEPATIC AND RENAL MARKERS IN FEMALE RATS OF THE WISTAR LINEAGE FROM THE BIOTERY OF THE FACULTY SANTA MARIA

Luanna Vieira Torres¹
Dyogenes Henrique Azevedo Rodrigues²
Luan Evangelista Carlos³
Thaise de Abreu Brasileiro Sarmiento⁴
Vanessa Erika Ferreira Abrantes⁵

Resumo: Objetivo: Este trabalho teve como objetivo estabelecer valores de referência de parâmetros bioquímicos (Hepáticos e Renais) de ratas fêmeas da linhagem Wistar provenientes do Biotério da Faculdade Santa Maria-PB. **Materiais e Metodologia:** As ratas (n24) passaram por um jejum prévio de 8 horas, após isso, foram anestesiadas com Cloridrato de Cetamina (C) e Cloridrato de Xilazina (X) na proporção de 75-95 mg/kg (C) + 5 mg/kg (X) intraperitoneal. A coleta do sangue foi realizada pela artéria aorta e através de punção cardíaca. Avaliaram-se a determinação bioquímica de vários constituintes plasmáticos: ureia, creatinina, proteínas totais e frações, AST e ALT, e Albumina. Foram utilizadas 24 ratas, albinos, Wistar, adultos-jovens, de peso entre 200-250g, provenientes do biotério da Faculdade Santa Maria, Cajazeiras-PB. **Resultados:** A padronização dos resultados dos exames bioquímicos utilizados neste trabalho foi feita, tendo assim valores de referência próprios do Biotério da Faculdade Santa Maria, visto que comparado com outros biotérios (USP, UNIT, UFS) os valores não são iguais, apesar de ser da mesma espécie e raça, contribuindo para uma melhor confiança dos testes analisados. **Conclusão:** Os resultados apresentados caracterizam as condições dos ratos de laboratório, mantidos no Biotério da Faculdade Santa Maria-PB, estabelecendo valores de referência para esses animais, os quais são usados em diversas linhas de pesquisas na FSM. As dosagens bioquímicas e o equipamento

¹ Bacharel em Biomedicina pela Faculdade Santa Maria - FSM, Cajazeiras -PB.

² Bacharel em Biomedicina pela Faculdade Santa Maria - FSM, Cajazeiras -PB.

³ Bacharel em Biomedicina pela Faculdade Santa Maria - FSM, Cajazeiras -PB.

⁴ Bacharel em Medicina. Professora da Faculdade Santa Maria - FSM, Cajazeiras - PB.

⁵ Mestre em Biologia Celular e Molecular pela UFPB. Professora da Faculdade Santa - FSM, Cajazeiras - PB.

utilizado, além da metodologia são influentes nos resultados obtidos. Com isso, é importante que cada laboratório tenha seus valores de referência de acordo com a metodologia utilizada. Portanto, é importante o conhecimento dos valores de referência dos animais de experimentação, considerando que podem exibir variações devido a vários fatores que são levados em consideração nas pesquisas experimentais.

Palavras-chave: Análise química do sangue. Animais de Laboratório. Modelos animais.

Abstract: Objective: *This study aimed to establish reference values of biochemical parameters (Hepatic and Renal) of female Wistar rats from the Biotherium of Faculdade Santa Maria-PB. **Materials and Methods:** The rats (n24) underwent a previous fast of 8 hours, after which they were anesthetized with Ketamine Hydrochloride (C) and Xylazine Hydrochloride (X) in the proportion of 75-95 mg / kg (C) + 5 mg / kg (X) Intraperitoneal. Blood collection was performed through the aortic artery and through cardiac puncture. The biochemical determination of several plasma constituents: urea, creatinine, total proteins and fractions, AST and ALT, and Albumin were evaluated. Twenty-four female Wistar rats were used to evaluate the results of the biochemical tests used in the present study. The animals were aged from 200-250 g, from the Santa Maria College, Cajazeiras-PB. **Results:** Other colleges values are not equal, despite being of the same species and race, contributing to a better confidence of the analyzed tests. **Conclusion:** The results presented characterize the conditions of the laboratory rats, kept in the Biological Laboratory of Santa Maria College, establishing reference values for these animals, which are used in several lines of research at the WFTU. The biochemical dosages the equipment used and the methodology are influential in the results obtained. Thus, it is important that each laboratory has its reference values according to the methodology used. Therefore, it is important to know the reference values of experimental animals, considering that they can exhibit variations due to several factors that are taken into account in experimental research.*

Keywords: Blood Chemical Analysis. Animals, Laboratory. Models, animal.

INTRODUÇÃO

Os experimentos com animais de laboratório contribuem com a ciência, saúde e tecnologia, desenvolvendo ao longo de vários anos resultados e medidas que promovem o tratamento de patologias que acometem os seres humanos. Animais de variadas espécies são utilizados na pesquisa, porém os ratos tem maior escolha na área científica. (MENENDEZ, 1985; CHORILLI, MICHELIN, SALGADO, 2007).

Os ratos, desde que foram introduzidos no dia-a-dia das pesquisas laboratoriais, transformaram-se em um dos mais importantes e usados animais experimentais, devido ao seu fácil manejo, por serem prolíferos, terem um ciclo de vida curto e seu organismo apresentar semelhanças fisiológicas com o dos humanos (HARKNESS, WAGNER, 1993).

Assim como alguns mamíferos, os ratos têm de manter o seu meio constante, apesar da existência de mecanismos próprios de controle dos parâmetros fisiológicos. Os valores normais e seus possíveis diferenciais são importantes para avaliar a homeostase e as alterações em processos patológicos correlacionando com os resultados obtidos nos modelos experimentais. Com isso, os parâmetros bioquímicos e hematológicos são determinados em vários países que prezam pelo bem da pesquisa e rigoroso controle do seu biotério (SILVERSTEIN, SILVERSTEIN, 1980; HARKNESS, WAGNER, 1993).

Apesar de que cada animal possui seus mecanismos no quesito fisiológico, é sabido que podem existir variações quando associados com sexo, raça ou genótipo, correspondendo com fatores como alimentação, idade, tipo de manuseio e ambiente no qual habita, podendo sofrer influências ecológicas de acordo com a região que vive. Devido a isso, é necessário que cada biotério estabeleça controles de padronização dos seus valores de referência, pois o conhecimento destes parâmetros é de total importância na avaliação e escolha dos animais, como também obtenção dos resultados nos procedimentos de experimentação (NUNES *et al.*, 1994).

O objetivo deste trabalho foi estabelecer valores de referências dos parâmetros hepáticos e renais de ratos Wistar provenientes do biotério da Faculdade Santa Maria-PB.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 24 ratos, albinos, Wistar, adultos-jovens, fêmeas, de peso entre 200-250g, provenientes do biotério da Faculdade Santa Maria, Cajazeiras-PB. Os animais foram mantidos em gaiolas de polietileno, sob condições monitoradas de temperatura ($20 \pm 3^{\circ}\text{C}$), ciclo claro/escuro de 12 horas, sendo a fase clara de 06 às 18 horas, recebendo ração padrão Nuvilab[®] e água *ad libitum* disponíveis em garrafas de polietileno com bicos de inox.

Os procedimentos foram realizados nos laboratórios de habilidades cirúrgicas, Bioquímica e Análises Clínicas da Faculdade Santa Maria - FSM, no período compreendido das 17 às 22 horas. Todos os animais foram mantidos durante 3 horas antes do experimento na sala onde foi desenvolvido o estudo, a fim de adaptá-los ao ambiente experimental (Figura 1). Antes de cada procedimento, as bancadas e os aparelhos utilizados foram higienizados com álcool a 70%. A pesquisa seguiu em conformidade e foi conduzida em obediência às normas e diretrizes bioéticas vigentes para ensaios envolvendo seres vivos: animais (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, do NIH - National Institute of Health-EUA, 1996; Lei Federal Nº 11.794/2008; Conselho Nacional de Controle de Experimentação - CONCEA); e integridade da fauna e flora (Lei Federal Nº 9605/1998) (MACHADO *et al.*, 2004). O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Faculdade Santa Maria - FSM, com o número 004/2016.

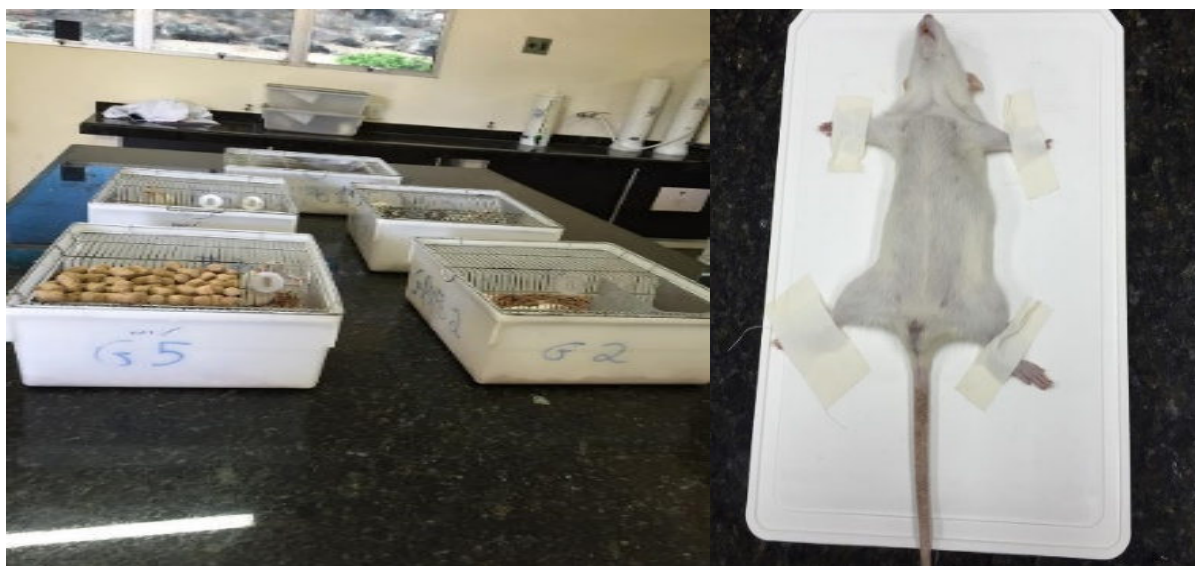


Figura 1: Grupos de ratas utilizadas nos experimentos em período de adaptação ao ambiente laboratorial (esquerda). Rata Anestesiada em decúbito dorsal (direita).

Fonte: TORRES *et al.*, 2017.

As análises sanguíneas dos animais foram realizadas no Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade Santa Maria. As ratas (n24) passaram por um jejum prévio de 8 horas, após isso, foram anestesiadas com Cloridrato de Cetamina (C) e Cloridrato de Xilazina (X) na proporção de 75-95 mg/kg (C) + 5 mg/kg (X) intraperitoneal. A coleta do sangue foi realizada pela artéria aorta e através de punção cardíaca (Figura 2). Análises bioquímicas foram realizadas em amostras séricas usando um analisador semiautomático Bioclin 100. O soro foi obtido por centrifugação do sangue em microtubos contendo acelerador de coagulação e sem anticoagulantes, a 3500 rpm por 15 minutos. Kits de diagnóstico padronizados (Labtest®) foram utilizados para as avaliações espectrofotométricas dos seguintes parâmetros bioquímicos: aspartato transaminase (AST), alanina transaminase (ALT), proteínas totais, albumina e creatinina, ureia e creatinina.



Figura 2: Exposição - Coleta Sanguínea/Artéria Aorta

Fonte: TORRES *et al.*, 2017.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As tabelas 1 e 2 representam a média \pm E.P.M. (erro padrão da média), sendo p SR (Sem relevância) x $p < 0,05$ (ANOVA e teste de Dunnett's).

A padronização dos resultados dos exames bioquímicos utilizados neste trabalho foi feita, tendo assim valores de referência próprios do Biotério da Faculdade Santa Maria, visto que comparado com outros biotérios (USP, UNIT, UFS) os valores não são iguais, apesar de ser da mesma espécie e raça, contribuindo para uma melhor confiança dos testes analisados.

Tabela 1: Padronização e Parâmetros bioquímicos obtidos de ratas Wistar provenientes do biotério da Faculdade Santa Maria.

| Exames | Ratas do Biotério da Faculdade Santa Maria |
|------------------|---|
| AST | Média 117, valor mínimo 114, valor máximo 140 |
| ALT | Média 34, valor mínimo 33, valor máximo 70 |
| ALBUMINA | Média 1,9 Valor mínimo 1, valor máximo 5,4 |
| PROTEÍNAS TOTAIS | Média 3,1. Valor mínimo 3,1, valor máximo 4,5 |
| UREIA | Média 37, valor mínimo 36, máximo 50. |
| CREATININA | Média 1,4. Valor máximo: 2, valor mínimo 1. |

Fonte: TORRES *et al.*, 2017.

Tabela 02: Padronização e Parâmetros bioquímicos obtidos de ratas Wistar provenientes do biotério da Faculdade Santa Maria correlacionando com diferentes biotérios.

| Exame | Faculdade Santa Maria | USP | Unit | UFS |
|------------------|---|----------|----------|---------|
| AST | Média 117, valor mínimo 114, valor máximo 140 | 114-290 | 51-211 | 83-184 |
| ALT | Média 34, valor mínimo 33, valor máximo 70 | 129-148 | 32-63 | 26-60 |
| ALBUMINA | Média 1,9 Valor mínimo 1, valor máximo 5,4 | 2,8-6,1 | 1,3-3,8 | 2,6-3,4 |
| PROTEÍNAS TOTAIS | Média 3,1. Valor mínimo 3,1, valor máximo 4,5 | 5,5-10,4 | 5-7,7 | 6,1-7,4 |
| UREIA | Média 37, valor mínimo 36, máximo 50. | 41-44 | 24-49 | 30-57 |
| CREATININA | Média 1,4. Valor máximo: 2, valor mínimo 1. | 0,3-0,6 | 0,28-1,1 | 0,4-0,7 |

Legenda: AST: Aspartato transaminase; ALT: Alanina aminotransferase. USP: Universidade de São Paulo - SP; Unit: Universidade Tiradentes de Caruaru - PE; UFS: Universidade Federal de Sergipe. Fonte: TORRES *et al.*, 2017.

Duncan e Prasse (1982), salientam que os valores que concordam entre si, podem ocorrer devido às diferentes metodologias usadas para os testes. Corroborando com as informações, Lillie e colaboradores (1996) relatam que os resultados só devem ser generalizados em condições diretamente específicas do

estudo, como por exemplo a mesma linhagem, idade, dieta e metodologia desenvolvida.

Com isso, a análise comparativa deste trabalho com os apresentados nas demais literaturas mostra claramente que variações existem, sendo resultados de diferenças, como fatores ambientais, manuseio e o tipo de metodologia. Os resultados aqui mostrados não excluem novas determinações, visto que os animais a cada dia são mantidos em condições experimentais diferentes. Mais estudos são necessários para que se tenha um perfeito conhecimento da fisiologia animal para que haja um equilíbrio entre os resultados.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados apresentados caracterizam as condições dos ratos de laboratório, mantidos no Biotério da Faculdade Santa Maria-PB, estabelecendo valores de referência para esses animais, os quais são usados em diversas linhas de pesquisas na FSM. As dosagens bioquímicas o equipamento utilizado e a metodologia são influentes nos resultados obtidos. É importante que cada laboratório tenha seus valores de referência de acordo com a metodologia utilizada. Portanto, é importante o conhecimento dos valores de referência dos animais de experimentação, considerando que podem exibir variações devido a vários fatores que são levados em consideração nas pesquisas experimentais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CHORILLI M, MICHELIN DC, SALGADO HRN, Animais de Laboratório: o camundongo, **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v.28, n.1, p.11-23, 2007.

DUNCAN JR, PRASSE KW, Patologia Clínica Veterinária, Apêndice I, Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, 1982, 5p.

HARKNESS SE, WAGNER JE, Biologia e Clínica de coelhos e roedores, 3. ed., São Paulo: **Livraria Roca Ltda**, 1993, 238p.

LILLIE EL, TEMPLE NJ, AND FLORENCE LZ, Reference values for young normal Sprague-Dale rats: weight gain, hematology and clinical chemistry, **Hum. Exp. Toxicol**, v.15, n. 8, p.612-616, 1996.

MENENDEZ RC, Animales de Laboratorio en las Investigaciones Biomedicas, La Habana: **Ciencias Medicas**, 1985, 205 p.

NUNES DCS, FAVALI CBF, SOUZA-FILHO AA, SILVA ACM, FILGUEIRAS TM, LIMA MGS, Evaluation of cellular profile and main constituents the rat and mouse blood from the animal house of the Federal University of Ceará, Brazil, **Rev. Med. UFC**, v.34, n.1-2, p.:21-29, 2004.

SILVERSTEIN A, SILVERSTEIN V, Mice aill about them, São Paulo: **Harper and Row**, 1980, 84 p.