XII JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA
EVENTO ON-LINE
18 A 21 DE OUTUBRO
UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL

ATIVIDADE FAGOCÍTICA E OXIDATIVA DE NEUTRÓFILOS EM CANINOS HÍGIDOS SUBMETIDOS À ORQUIECTOMIA ELETIVA POR DOIS MÉTODOS DE HEMOSTASIA

JÉSSICA CORRÊA[1,2]*, IZABELLE MOUTINHO[3], VICTOR MENDES DE OLIVEIRA[3], VINÍCIUS CARDOSO DE OLIVEIRA[3], FABÍOLA DALMOLIN[2,4]

1 Introdução

A orquiectomia é um dos procedimentos mais realizados na Medicina Veterinária e para a hemostasia pode-se utilizar pinçamento e ligadura ou eletrocirurgia (ANDERSON, 2012; MACPHAIL; FOSSUM, 2019).

A inflamação local e sistêmica pode ser observada após a cirurgia como resposta do organismo decorrente da ativação do sistema imune inato (ANDERSON, 2012). Os neutrófilos são as células mais abundantes do sangue, a primeira linha de defesa do organismo. Estas células ativam o metabolismo oxidativo durante a fagocitose e produzem espécies reativas de oxigênio (EROs) (TIZARD, 2019). Uma forma de mensurar a atividade oxidativa destas células é pelo teste da redução do tetrazólio nitroazul (NBT), sendo esta correlacionada ao metabolismo oxidativo, que avalia importante componente bactericida dos neutrófilos (ROTH et al., 1983).

2 Objetivos

Avaliar a atividade fagocítica e oxidativa dos neutrófilos de cães submetidos à orquiectomia com hemostasia com pinçamento e ligadura ou energia bipolar.

1Discente de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Realeza, contato: jessica.correa@estudante.uffs.edu.br
2 Grupo de Pesquisa Sanidade Animal
3 Discente de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Realeza
4 MV, Doutora, Professora da Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Realeza. **Orientadora**.

3 Metodologia

Após aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais foram selecionados 20 caninos machos inteiros de um a quatro anos, sem raça pré-definida, sete a 22 kg e vermifugados, incluídos se constatada ausência de alterações físicas e laboratoriais. O exame físico incluiu inspeção visual, frequência cardíaca e respiratória, mucosas, escore corporal (5-6/9), termometria, linfonodos e abdômen. Por venopunção jugular foram coletados 4 ml de sangue para hemograma, alanina aminotransferase, fosfatase alcalina, ureia, creatinina e albumina.

Os animais foram operados ao longo de três meses, sendo internados 36 horas antes da cirurgia no local das avaliações em ambiente climatizado (22 °C) e box individual. Receberam ração comercial e água *ad libitum* e manejo realizado sempre pelos mesmos pesquisadores.

Após jejum sólido de oito e líquido de duas horas aplicou-se meperidina (4 mg/Kg^{-1}/IM). Após 15 minutos seguiu-se tricotomia e acesso venoso para fluidoterapia com Ringer lactado (3 ml/kg^{-1}/hora). Aplicou-se propofol (1 mg/kg^{-1} IV/a cada 10 segundos) até a intubação orotraqueal. A manutenção anestésica foi com isoflurano vaporizado em oxigênio 100% em aparelho calibrado, iniciando em 1,5 CAM com ajustes de 0,25 CAM. Foi aplicado fentanil (2,5 µg/kg^{-1}/IV) em caso de aumento de 20% de dois dos parâmetros basais avaliados.

Os animais foram distribuídos por sorteio em dois grupos e foi aplicada a técnica aberta pré-escrotal. No grupo OrqLig aplicou-se o método das três pinças modificado com ligadura circular e transfixante de poliglactina 910 (MACPHAIL; FOSSUM, 2019). Após sutura da túnica vaginal repetiu-se o procedimento no testículo contralateral; aproximou-se o subcutâneo em zigue-zague com poliglactina 910 a pele com sutura intradérmica e náilon. No OrqBip aplicou-se energia bipolar em três pontos, a semelhança do pinçamento no OrqLig.

Avaliou-se o tempo cirúrgico com cronômetro digital e no pós-operatório foi aplicada meperidina (4 mg/Kg^{-1}/IM/TID/24 h). Durante a anestesia implantou-se cateter jugular, heparinizado, para coleta de sangue no pós-operatório.

Foram coletados 2,5 ml de sangue antes da cirurgia e as seis, 12, 24, 48 h e 10 dias após. Foi acondicionado em tubo com ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) 0,5 ml para o leucograma (HENDRIX, 2006), sendo confeccionadas lâminas em duplicatas coradas com

panótico para leitura, ainda não finalizada. Para função fagocítica e oxidativa utilizou-se 2 ml de sangue em eppendorfs com heparina sódica. Adicionou-se NBT (NBT-Amresco®, EUA) para avaliação oxidativa com e sem estimulação fagocitária (CIARLINI et al., 2004). A estimulação ocorreu pela adição do liofilizado de *Saccharomyces cerevisae* (Zymosan®, Sigma Alderich, EUA), avaliado em lâminas coradas com panótico e fixadas por metanol em duplicata.

Ao fim das cirurgias iniciou-se a leitura das lâminas sempre pelo mesmo pesquisador, a partir da contagem de 100 neutrófilos por lâmina em microscopia óptica (100X). Considerou-se neutrófilos positivos para a função oxidativa aqueles com grânulos citoplasmáticos violáceos ou enegrecidos (cristais de formazam), independentemente do número e tamanho das granulações. Para função fagocítica avaliou-se a porcentagem dos neutrófilos com partículas de Zymosan® fagocitadas a partir da contagem de 100 neutrófilos.

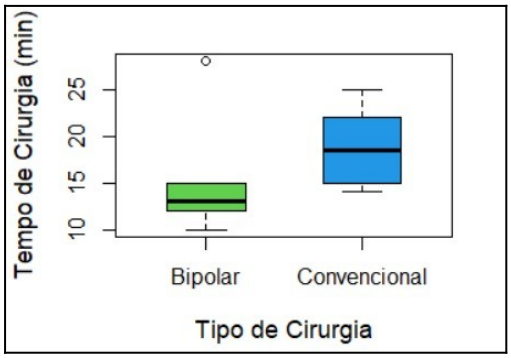
4 Resultados e Discussão

A ambientação dos pacientes por 36 horas permitiu obter-se tolerância dos animais à manipulação, bem como estes ao grupo de pesquisadores. Considerou-se esse manejo importante para as avaliações hematológica, pois além do estresse e da excitação, o medo pode gerar neutrofilia nos pacientes (FELDMAN et al., 2000), e por isso deve ser evitado.

Não foram observadas intercorrências cirúrgicas com ambas as técnicas, assim como o observado no estudo de Watts (2017), no qual verificou-se segurança no uso da pinça de hemostasia bipolar, assim como praticidade no uso desta ferramenta operatória.

Quanto ao tempo cirúrgico, o valor mediano no grupo OrqBip foi de 13,0 min e no grupo OrqLig foi de 18,5 min. Observou-se que a hemostasia bipolar reduziu o tempo do procedimento cirúrgico em 5,5 minutos, comparativamente ao método tradicional das três pinças modificado com ligadura circular e transfixante (Figura 1); assim, verificou-se redução do tempo cirúrgico em 29,72%. O fato corrobora com o descrito por Watts (2017), o qual ainda cita que além da redução do tempo, o uso de hemostasia bipolar permite diminuição de custos ao reduzir o uso de materiais como os fios de sutura.

Figura 1. Média e desvio padrão do tempo cirúrgico de caninos submetidos à orquiectomia com hemostasia bipolar (OrqBip) ou pinçamento e ligadura (OrqLig).



Não foram observadas dificuldade durante a realização e execução do teste do NBT com as amostras estimuladas e as não estimuladas, sendo este considerado de fácil execução pelos pesquisadores. Tal fato corrobora com Bosco et. al. (2012), que ainda salientam o baixo custo do teste, considerando os insumos e equipamentos necessários.

Durante a leitura das lâminas por meio de microscopia óptica pode visibilizar-se facilmente o corante no interior dos fagócitos e junto a membrana destes, assim como relatado por Nathan (1974) em seu estudo.

Os dados referentes as análises do diferencial de leucócitos, atividade fagocítica e oxidativa dos neutrófilos foram tabulados e estão em fase de análise estatística.

5 Conclusão

A hemostasia bipolar é segura na orquiectomia eletiva e reduz o tempo cirúrgico comparado à técnica das três pinças modificada e ligadura.

Referências Bibliográficas

ANDERSON, D. M. Surgical Hemostasis. In: TOBIAS, K. M.; JOHNSTON, S. A. **Veterinary surgery: small animal**. 1.ed. St. Louis: Elsevier, cap.19. 2012. p. 214-220.

BOSCO, A. M., et. al. Valor do teste de redução do tetrazólio nitroazul (NBT) no diagnóstico de processos inflamatórios caninos. **ARS Veterinária**, Jaboticabal, p.161-168, 2012.

CIARLINI, P. C. et al. Efeito da vacina polivalente sobre o leucograma e o metabolismo oxidativo dos neutrófilos em cães. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 71, n. 3, p. 323-327, 2004.

FELDMAN, B. F. et. al. **Schalm's Veterinary Hematology**. 5. ed. Lippincott: Willians & Wilkins, p.1344, 2000.

HENDRIX, C. M. **Procedimentos laboratoriais para técnicos veterinários**. 4.ed. São Paulo: Roca, 2006, p.556.

MACPHAIL, C.; FOSSUM, T. W. **Small Animal Surgery**. 5.ed. Philadelphia: Elsevier, 2019.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria, 2022.

NATHAN, D. G. NBT reduction by human phagocytes. **New England Journal of Medicine**, v. 290 n. 5, p. 280-281, 1974.

ROTH, J. A. et al. Association of increased estradiol and progesterone blood values with altered bovine polymorphonuclear leukocyte function. **American Journal Of Veterinary Research**, v. 44, n. 2, p. 247-253, 1983.

TIZARD, I. R. Respostas Sistêmicas à inflamação Imunidade Inata: Neutrófilos e Fagocitose. In:____. **Imunologia Veterinária.** 9.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, cap.6. 2019. p. 52-60.

WATTS, J. The use of bipolar electrosurgical forceps for haemostasis in open surgical ovariectomy of bitches and queens and castration of dogs. **Journal of Small Animal Practice**, v. 59, n. 8, p. 465-473, 2017.

Palavras-chave: NBT; Zymosan; Complicações pós-operatórias; Energia bipolar; Explosão respiratória.

Nº de Registro no sistema Prisma: PES 2021-0160

Financiamento

Fundação Araucária de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Paraná