

Influência do tipo de parto na hematologia do cordão umbilical de cães

Influence of the kind of delivery in the dog umbilical cord hematology

Ana Paula Massae Nakage¹ Aureo Evangelista Santana²
Maria Luisa Buffo de Cápua³ Aline Vieira Godoy⁴

RESUMO

O sangue do cordão umbilical humano tem sido crescentemente utilizado como fonte de células-tronco. Os modelos experimentais de células-tronco da medula óssea, em cães, têm propiciado informações importantes para transplantes medulares em humanos. Vários trabalhos citam a influência do tipo de parto nas características do sangue do cordão umbilical (SCU) humano. Entretanto, não existem relatos sobre a colheita do sangue do cordão umbilical de cães. O objetivo deste ensaio é avaliar a influência do tipo de parto na hematologia do cordão umbilical de cães. No presente protocolo experimental, foram estudados 54 fetos de cães, ao final da vida intra-uterina, provenientes de parto normal (n=24) e cesariana (n=30). A colheita de sangue do cordão umbilical foi realizada com seringa de cinco mL contendo solução anticoagulante EDTA (1mg/1mL sangue). Em seguida, a contagem global de hemácias, leucócitos, plaquetas, a determinação da concentração de hemoglobina, taxa de hematócrito, os índices eritrocitários foram realizados no contador automático de células. A contagem diferencial de leucócitos foi determinada em esfregaços de SCU corados com May-Grunwald-Giemsa (MGG). Com relação ao eritrograma e ao plaquetograma, não houve diferença significativa entre as amostras obtidas em cesarianas e partos normais. Os valores do leucograma do SCU colhido em partos normais foram superiores àqueles obtidos em cesarianas (P<0,05). Portanto, o tipo de parto influencia os valores hematológicos do cordão umbilical de cães.

Palavras-chave: hematologia, cordão umbilical, tipo de parto, cães.

ABSTRACT

The human umbilical cord blood (UCB) has been used as stem cell resource. The models for the study of blood and bone marrow stem cells in dogs have provided important information for bone marrow transplants in humans. Several articles report the influence of the kind of delivery in the human UCB characteristics. However, there are no studies on the collection of umbilical cord blood of dogs. This experiment aimed to evaluate the influence of the kind of delivery in the dog UCB hematology. In this study 54 dog fetuses were studied, at the end of the intrauterine life, provided from vaginal (n=24) and cesareans (n=30) deliveries. The blood samples were collected with a 5 mL syringe containing EDTA (1 mg/1 mL of blood). Total count of erythrocytes, leukocytes, and platelets, as well as the determination of globular volume, hemoglobin concentration, and erythrocytic indexes were carried out using an automatic cell counter. The differential count of leukocytes was made in blood smears stained with a mixture of May-Grunwald-Giemsa. Regarding to the erythrogram and the thrombogram, no statistical differences were observed between the samples obtained from vaginal and placental deliveries. The leukogram of the umbilical cord blood collected from vaginal deliveries was greater than cesareans deliveries (P<0.05). Therefore, the kind of delivery influences the hematological values of the umbilical cord of dogs.

Key words: hematology, umbilical cord, kind of delivery, dogs.

¹Médico Veterinário, Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Clínica Médica Veterinária, Nível Doutorado, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Jaboticabal, Correspondência: Av. João Fiúsa, 1757, apto 12, 14024-250, Ribeirão Preto, SP, Brasil. E-mail: apnkg@hotmail.com.

²Médico Veterinário, Professor Adjunto, FCAV, UNESP, Campus de Jaboticabal.

³Médico Veterinário, Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Clínica Médica Veterinária, Nível Mestrado, FCAV, UNESP, Campus de Jaboticabal.

⁴Graduando do Curso de Medicina Veterinária, FCAV, UNESP, Campus de Jaboticabal.

INTRODUÇÃO

Existem vários relatos sobre a colheita de sangue do cordão umbilical (SCU) em humanos, sendo que determinados fatores durante a colheita podem alterar as características do SCU. A colheita do SCU não oferece risco ao doador, não requer hospitalização, não necessita de anestesia geral, não causa desconforto, não necessita da colaboração e disponibilidade de grande número de voluntários, tendo assim, vantagens sobre a colheita de medula óssea (RUBINSTEIN et al., 1993; WAGNER, 1993).

O tipo de parto pode influenciar nas propriedades do sangue do cordão umbilical humano. SPARROW et al. (2002) asseveraram que o SCU colhido durante a cesariana apresenta maior volume, porém menor contagem global de leucócitos quando comparado ao SCU colhido em parto normal; não houve diferença significativa na contagem de células CD34⁺. YAMADA et al. (2000) relataram que o volume e a contagem de células CD34⁺ no SCU foram mais elevados quando colhidos durante a cesariana, porém PAFUMI et al. (2002) não observaram diferenças no SCU colhido em parto normal e cesariana.

A contagem global dos eritrócitos, leucócitos e plaquetas do cordão umbilical humano pode ser realizada com o auxílio de um contador automático de células, assim como a contagem diferencial de células leucocitárias maduras e de seus precursores por meio de esfregaços corados com May-Grunwald-Giemsa (RUBINSTEIN et al., 1995).

A contagem global de leucócitos foi menor no SCU humano obtido em cesarianas, quando comparado com partos normais. A contagem global de hemácias e plaquetas foi semelhante nos dois tipos de parto (NIKISCHIN et al., 1997).

Amostras de SCU humano colhidas em partos normais e cesarianas não apresentaram diferenças significativas com relação ao volume, contagem de células nucleadas, análise de CD34, viabilidade, ensaios clonogênicos e microbiologia (SOLVES et al., 2003).

Os valores médios obtidos para o peso médio das placentas e dos recém-nascidos, o volume médio do sangue colhido, os números médios de células nucleadas e progenitoras do SCU humano colhido em parto normal ou cesariana foram 479,4±138g e 3185±572g; 64,6±30,2mL; 16,41±19,47 x 10⁶ mL⁻¹ e 2,35±2,35 x 10⁶ mL⁻¹, respectivamente. Houve correlação positiva entre os pesos de recém-nascidos e placentas, assim como entre o volume de sangue colhido e a concentração de

células progenitoras. Embora não tenha sido demonstrado estatisticamente, o parto através de cesariana pareceu ter causado um risco adicional de hemorragia durante o procedimento, sendo mais adequada a colheita durante o parto natural (ROMÃO et al., 1999).

Valores hematológicos (exceto o número de hemácias e a concentração de hemoglobina corpuscular média), sub-populações linfocitárias (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺) e células progenitoras hematopoéticas de SCU de fetos humanos apresentaram-se mais elevados do que aqueles obtidos no sangue periférico de adultos saudáveis quando avaliados por contadores automáticos de células, citometria de fluxo e culturas celulares semi-sólidas (CHAISIRIPOOMKERE et al., 1999).

As células nucleadas progenitoras, assim como a esterilidade de, pelo menos, 100 amostras de SCU humano antes e após a criopreservação foram avaliadas, sendo que o SCU permaneceu viável a 4°C ou 25°C por, no mínimo, três dias após a colheita (BROXMEYER et al., 1989).

Modelos experimentais em cães têm propiciado a obtenção de informações importantes no transplante de progenitores hematopoéticos autólogos e alogênicos, permitindo a transposição destes achados experimentais para os seres humanos (WAGNER & STORB, 1996). A experimentação com cães permite melhor avaliação clínica, assim como, maior facilidade na colheita e transfusão do sangue (THOMAS, 1999).

O cordão umbilical é o anexo fetal que une o feto à placenta, apresentando no seu interior os vasos umbilicais, que são responsáveis pelas trocas sanguíneas entre os organismos fetal e materno (MICHEL & SCHWARZE, 1970). O funículo umbilical de cães é dividido em três porções: justafetal, terço médio e justaplacentária. Na porção justafetal, encontram-se as duas artérias umbilicais (cranial e caudal), uma veia umbilical, o pedículo alantóideo e o pedículo do saco vitelino. No terço médio, ocorrem as ramificações das artérias umbilicais cranial e caudal dando origem a quatro ramos (primeiro e segundo ramos craniais e caudais) e, além disso, verificam-se as confluências venosas das raízes venosas cranial e caudal, que são constituídas pelas primeiras radículas craniais e pelas segundas radículas caudais, respectivamente. Na porção justaplacentária, observam-se quatro ramos arteriais e quatro radículas venosas, atingindo a placenta, distribuindo-se pelos lados esquerdo e direito da cinta placentária, próximos aos hematomas marginais (ZANCO, 1998).

Os carnívoros são denominados deciduados por possuírem placentas verdadeiras endoteliocoriais,

caracterizadas pela união materno-fetal íntima com o endométrio, havendo desprendimento de tecidos uterinos e endometriais no parto. Além disso, a forma externa da placenta de carnívoros é caracterizada pela distribuição das interdigitações coriônicas materno-fetais lamelares em forma de cinto, constituindo a placenta zonária (NODEN & LAHUNTA, 1990).

O sangue materno é separado do sangue fetal pela barreira placentária, constituída pelo endotélio materno, tecido conjuntivo, epitélio materno, epitélio coriônico, tecido conjuntivo e endotélio fetal (LEISER & KAUFMANN, 1994).

O fluxo sangüíneo materno-fetal dos carnívoros é classificado como fluxo em corrente secundária simples, devido à disposição perpendicular dos capilares maternos e fetais em relação ao fluxo sangüíneo principal na área de trocas (LEISER & KAUFMANN, 1994). Não há mistura de sangue arterial e venoso no funículo umbilical e na placenta, devido à ausência de anastomoses entre os vasos sangüíneos (ZANCO, 1998).

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência do tipo de parto na hematologia do cordão umbilical de cães oriundos de cadelas sadias submetidas ao parto normal ou cesariana.

MATERIAL E MÉTODOS

O sangue do cordão umbilical foi colhido de 54 fetos a termo, oriundos de cadelas sadias submetidas ao parto normal (n=24) ou cesariana (n=30) junto ao Instituto de Obstetrícia e Reprodução de cães e gatos "Prof. Dr. Vicenti Borelli" do Hospital Veterinário "Governador Laudo Natel" da FCAV/UNESP, Campus de Jaboticabal.

A colheita de sangue foi realizada com a placenta de cada feto posicionada em plano elevado para que o sangue do cordão umbilical fluísse e fosse

colhido por punção das veias umbilicais com seringa de cinco mL contendo como anticoagulante, o ácido etilenodiaminotetracético dissódico 10% (EDTA – 1mg mL⁻¹).

O sangue do cordão umbilical foi submetido à avaliação hematológica, incluindo contagens globais de hemácias, leucócitos e plaquetas, assim como determinação da concentração de hemoglobina, do hematócrito, do volume corpuscular médio (VCM) e da concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), todos com o auxílio do contador automático de células ACT-8 Coulter e contagem diferencial de leucócitos em esfregaços sangüíneos corados com uma mistura de May-Grünwald-Giemsa (MGG). A contagem global de leucócitos foi corrigida de acordo com o número de hemácias nucleadas observadas no esfregaço sangüíneo.

Os dados obtidos neste ensaio foram analisados através da análise de variância (ANOVA TEST) utilizando o procedimento GLM (PROCGLM) do programa computacional SAS (SAS User's Guide: Statistical Analysis Systems Cary, 1992), com o intuito de caracterizar as variáveis referidas acima. Para todas as análises, um valor de P inferior a 0,05 foi considerado significativo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios obtidos para os diferentes parâmetros do eritograma, leucograma e plaquetograma do sangue do cordão umbilical de cães a termo encontram-se na tabela 1.

Com relação ao eritograma, não houve diferença significativa entre as amostras obtidas em cesarianas e partos normais, com exceção da concentração de hemoglobina corpuscular média (P<0,05). NIKISCHIN et al. (1997) citaram que a

Tabela 1 – Valores médios e desvio padrão do eritograma, leucograma e plaquetograma obtidos, logo após a colheita, em sangue do cordão umbilical de cães nascidos a termo, provenientes de cesariana (n=24) e parto normal (n=30). Jaboticabal (SP), 2004.

	Cesariana	Parto normal
Contagem de hemácias (x10 ⁶ µL ⁻¹)	4,38 ± 0,83	4,56 ± 0,69
Concentração de hemoglobina (g dL ⁻¹)	14,39 ± 6,53	14,78 ± 2,47
Taxa de hematócrito (%)	44,91 ± 8,82	47,30 ± 7,31
Volume corpuscular médio (fL)	102,46 ± 6,38	103,75 ± 5,67
Concentração de hemoglobina corpuscular média (g dL ⁻¹)	29,86 ± 0,85*	31,20 ± 1,02
Contagem global de leucócitos (x10 ³ µL ⁻¹)	5,54 ± 2,55*	8,84 ± 3,80
Contagem de polimorfonucleares (x10 ³ µL ⁻¹)	3,78 ± 1,99*	7,11 ± 5,18
Contagem de mononucleares (x10 ³ µL ⁻¹)	1,76 ± 0,94*	2,97 ± 3,13
Contagem de plaquetas (x10 ³ µL ⁻¹)	350,17 ± 70,63	397,58 ± 160,94

* P<0,05.

contagem global de hemácias não diferiu nos dois tipos de parto em humanos.

A contagem global de leucócitos e o número absoluto de polimorfonucleares e mononucleares foi maior no SCU adquirido em partos normais ($P < 0,05$). SPARROW et al. (2002) e NIKISCHIN et al. (1997) asseveraram que o número de leucócitos do SCU humano colhido em partos normais foi superior àquele obtido em cesarianas.

O tipo de parto não influenciou a contagem de plaquetas neste ensaio, assim como verificado por NIKISCHIN et al. (1997) no SCU humano.

CONCLUSÃO

A contagem de leucócitos, polimorfonucleares e mononucleares do SCU colhido em partos normais foi superior àquela obtida em cesarianas. Portanto, o tipo de parto influencia os valores hematológicos do cordão umbilical de cães.

FONTE DE AQUISIÇÃO

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), (processos 01/01017-7 e 01/01016-0).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BROXMEYER, H.E. et al. Human umbilical cord blood as a potential source of transplantable hematopoietic stem/progenitor cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.86, n.10, p.3828-3832, 1989.
- CHASIRIPOOMKERE, W. et al. Study of hematopoietic progenitor cells, hematological values and lymphocyte subsets in cord blood: application for cord blood transplantation. **Southeast Asian Journal Tropical Medicine Public Health**, v.30, n.4, p.781-785, 1999.
- LEISER, R.; KAUFMANN, P. Placental structure: in a comparative aspect. **Experimental Clinical Endocrinology**, v.102, n.3, p.122-134, 1994.
- MICHEL, G.; SCHWARZE, E. Embriología. In: SCHWARZE, E. **Compendio de anatomía veterinaria**. Acribia : Zaragoza, 1970. Cap.6. p.136-143.
- NIKISCHIN, W. et al. The influence of mode of delivery on hematologic values in the umbilical vein. **Gynecologic and Obstetric Investigation**, v.43, n.2, p.104-107, 1997.
- NODEN, D.M.; LAHUNTA, A. **Embriología de los animales domésticos**. Acribia : Zaragoza, 1990. 399p.
- PAFUMI, C. et al. Influence of the kind of delivery on umbilical cord blood collection. **Haematologia**, v.31, n.4, p.341-345, 2002.
- ROMÃO, G.S. et al. O sangue de cordão umbilical como alternativa no transplante de medula óssea. In: CONGRESSO NACIONAL DO COLÉGIO BRASILEIRO DE HEMATOLOGIA, 17., 1999, Foz do Iguaçu, PR. **Anais...** Foz do Iguaçu : Colégio Brasileiro de Hematologia, 1999. V.6, p.58.
- RUBINSTEIN, P. et al. Processing and cryopreservation of placental/umbilical cord blood for unrelated bone marrow reconstitution. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.92, n.22, p.10119-10122, 1995.
- RUBINSTEIN, P. et al. Stored placental blood for unrelated bone marrow reconstitution. **Blood**, v.81, n.7, p.1679-1690, 1993.
- SPARROW, R.L. et al. Influence of mode of birth and collection on WBC yields of umbilical cord blood units. **Transplantation and Cellular Engineering**, v.42, n.2, p.210-215, 2002.
- SOLVES, P. et al. Comparison between two strategies for umbilical cord blood collection. **Bone Marrow Transplantation**, v.31, n.4, p.269-273, 2003.
- THOMAS, E.D. Historical review: a history of haemopoietic cell transplantation. **British Journal of Haematology**, v.105, n.2, p.330-339, 1999.
- WAGNER, J.E. Umbilical cord blood stem cell transplantation. **American Journal of Pediatric Hematology/Oncology**, v.15, n.2, p.169-174, 1993.
- WAGNER, J.L.; STORB, R. Preclinical large animal models for hematopoietic stem cell transplantation. **Current Opinion in Hematology**, v.3, n.6, p.410-415, 1996.
- YAMADA, T. et al. Factors affecting the volume of umbilical cord blood collections. **Acta Obstetrica Gynecologica Scandinavica**, v.79, n.10, p.830-833, 2000.
- ZANCO, N.A. **Pesquisa anatômica das artérias e veias do funículo umbilical, sua ramificação e disposição na placenta de cães (*Canis familiaris*, Linnaeus, 1758)**. 1998. 187f. Tese (Doutorado em Anatomia dos animais domésticos) – Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo.