

SÔBRE O TEOR DE ÁCIDO ASCÓRBICO NO SANGUE
TOTAL DE EQÜINOS (P.S.) DA VILA HÍPICA DO
JOCKEY CLUB DE SÃO PAULO

ABOUT ASCORBIC ACID LEVELS IN WHOLE BLOOD OF THOROUGHBRED
RACE HORSES

ARNALDO COSTA
Assistente

O. F. RIBEIRO
Tecnologista

Ocorreu-nos determinar estatisticamente a taxa de ácido ascórbico no sangue de eqüinos, por não haver até o presente momento dados a respeito que possam ser utilizados como valores médios em animais clinicamente sãos.

Para tal realizar escolhemos os animais alojados na Vila Hípica do Jockey Club de São Paulo, constituindo um conjunto homogêneo no que diz respeito à raça — puro sangue de corrida —, alimentação e sistema de trabalho, além de estarem sob controle clínico permanente.

Sendo o regime alimentar aproximadamente idêntico, de ordem quantitativa, pode-se considerá-lo como padronizado.

Quanto ao trabalho, mais ou menos sistemático, consta de exercícios preparatórios de pista, em geral pelo período da manhã e de exercícios leves, como passeios durante alguns minutos no pátio onde se acham localizadas as cocheiras, pelo período da tarde.

Compõe-se a alimentação de rações constituídas de milho, aveia, cenoura e elementos forrageiros verdes, como grama e kikuio, além de alfafa, esta em pequena proporção.

A quantidade média diária administrada a cada animal era a seguinte:

Aveia	6 quilos
Milho	6 quilos
Cenoura	0,5 a 0,8 quilo
Verdes	0,5 a 1 quilo

Das análises procedidas nos elementos componentes da ração, verificamos os seguintes índices médios: (*)

		Acido ascórbico (mg%)
		M
Aveia	(5 amostras)	0,118 — (0,08 — 0,26)
Milho	(5 amostras)	0,000 — (—)
Cenoura	(10 amostras)	5,104 — (4,49 — 5,64)
Kikuio	(20 amostras)	51,970 — (27,10 — 79,06)
Grâma	(20 amostras)	46,056 — (26,53 — 73,42)
Alfafa	(5 amostras)	6,200 — (5,50 — 6,80)

Dos resultados obtidos pelas análises, destacam-se os elementos que encerram maior teor em ácido ascórbico, que são justamente aqueles que entram em menor proporção na composição da ração diária.

MATERIAL E MÉTODO

Os animais utilizados para as análises constituíam lote bastante homogêneo quanto ao peso, que variava de 400 a 420 quilos, sendo os limites de idade correspondentes de 2 a 8 anos, com predominância de exemplares entre 2 e 5 anos.

O sangue retirado mediante punção da veia jugular, com agulha apropriada, era colocado em tubo contendo anti-coagulante seco (oxalato de sódio a 3%) em quantidade suficiente para o volume desejado (10 ml), sendo a seguir agitado e levado ao laboratório para a respectiva análise.

O método utilizado — o de Roe e Kuether, método colorimétrico esquematizado adiante —, foi escolhido para as determinações em sangue total.

a) — Desproteinização

1) — Num tubo de centrífuga de 50 ml colocar:

15 ml de ácido tricloroacético a 6%, 5 ml de sangue total. gôta a gôta, agitando com um bastão de vidro com a finalidade de se obter uma mistura bem fina.

(*) O método empregado para esta dosagem foi o publicado na Revista da Faculdade de Medicina Veterinária, vol. nº 2, fasc. 2, setembro 1942, págs. 29/39.

- 2) — Deixar pelo menos 5 minutos em repouso e centrifugar.
 - 3) — O líquido sobrenadante é recolhido a um frasco, contendo carvão ativado (0,75 g aproximadamente); agitar vigorosamente.
 - 4) — Filtrar em papel de filtro de 9 cm de diâmetro.
- b) — *Desenvolvimento de cor e fotometria*
- 5) — Tomar dois tubos de 25x105, A e B. Acrescentar a ambos 4 ml do filtrado e uma gota de uma solução alcoólica de tiouréa a 10%.
 - 6) — Acrescentar a A, 1 ml de 2,4-dinitrofenilhidrazina em solução a 2% em ácido sulfúrico a 85%, colocar em banho-maria a 37°C, durante 3 horas exatamente; colocar igualmente em banho-maria o tubo B.
 - 7) — Retirar A e B do banho-maria e colocá-los em água gelada contendo gelo em abundância.
 - 8) — Acrescentar a A e a B 5 ml de ácido sulfúrico a 85%. A adição deve ser lenta por meio de uma bureta graduada, uma gota de cada vez, com agitação dentro do banho gelado; levar aproximadamente 1 minuto, para que seja adicionado todo o reagente; *não lubrificar a torneira da bureta com vaselina.*
 - 9) — Acrescentar a B 1 ml de 2,4-dinitrofenilhidrazina. Agitar ambos os tubos no banho de água gelada. Passar para uma estante para tubo de ensaio.
 - 10) — Depois de 30 minutos em repouso, ler no fotômetro, utilizando o filtro verde ou 540.

RESULTADOS

Os valores de ácido ascórbico encontrados em cavalos puro sangue de corrida, computados para ambos os sexos, são apresentados na tabela I.

TABELA I — TEORES DE ÁCIDO ASCÓRBICO EM SANGUE TOTAL DE EQUINOS

Nº	Ácido ascórbico mg%	Nº	Ácido ascórbico mg%	Nº	Ácido ascórbico mg%
1	0,680	40	0,420	79	0,925
2	0,580	41	0,500	80	0,840
3	0,680	42	0,525	81	0,620
4	0,540	43	0,435	82	0,600
5	0,560	44	0,470	83	0,565
6	0,420	45	0,740	84	0,840
7	0,690	46	0,770	85	0,790
8	0,635	47	0,760	86	0,860
9	0,435	48	0,620	87	0,785
10	0,575	49	0,650	88	0,530
11	0,530	50	0,620	89	0,730
12	0,575	51	0,720	90	0,760
13	0,700	52	0,830	91	0,780
14	0,640	53	0,650	92	0,680
15	0,565	54	0,470	93	0,660
16	0,610	55	0,330	94	0,770
17	0,720	56	0,510	95	0,880
18	0,525	57	0,780	96	0,690
19	0,610	58	0,680	97	0,710
20	0,635	59	0,670	98	0,570
21	0,685	60	0,560	99	0,530
22	0,840	61	0,380	100	0,620
23	0,620	62	0,400	101	0,770
24	0,505	63	0,440	102	0,710
25	0,600	64	0,330	103	0,420
26	0,495	65	0,550	104	0,640
27	0,650	66	0,440	105	0,615
28	0,610	67	0,420	106	0,690
29	0,550	68	0,830	107	0,680
30	0,390	69	0,770	108	0,605
31	0,540	70	0,710	109	0,440
32	0,480	71	0,970	110	0,510
33	0,510	72	0,920	111	0,650
34	0,410	73	0,860	112	0,445
35	0,780	74	0,795	113	0,640
36	0,610	75	0,795	114	0,540
37	0,790	76	0,795	115	0,590
38	0,760	77	0,920	116	0,560
39	0,675	78	0,770	117	0,500

$$M = 0,633 \text{ mg}$$

$$\sigma = 0,140 \text{ mg}$$

$$\sigma_v = 0,013 \text{ mg}$$

Como se verifica, a média global em 117 animais (69 machos e 48 fêmeas) equivale a $0,633 \pm 0,013$ mg por 100 ml de sangue total. Os limites da distribuição das frequências correspondem respectivamente às observações de números 64 e 55 (0,330 mg por 100 ml de sangue) e 71 (0,970 mg por 100 ml).

Os dois primeiros valores estabelecidos em um macho e uma fêmea, o último determinado em um macho.

A amplitude de variação atinge pois a 0,640 mg por 100 ml de sangue total.

Na tabela II acham-se reunidos os índices calculados para os machos, isoladamente.

TABELA II — TEORES DE ÁCIDO ASCÓRBICO EM SANGUE DE EQUINOS
M a c h o s

Nº	Ácido ascórbico mg%	Nº	Ácido ascórbico mg%	Nº	Ácido ascórbico mg%
4	0,540	42	0,525	74	0,795
5	0,560	43	0,435	75	0,795
7	0,690	44	0,470	76	0,795
8	0,635	45	0,740	78	0,770
10	0,575	46	0,770	79	0,925
12	0,575	47	0,760	82	0,600
14	0,640	49	0,640	83	0,565
15	0,565	50	0,620	85	0,790
17	0,720	51	0,720	86	0,860
18	0,525	52	0,830	88	0,530
19	0,610	54	0,470	94	0,770
21	0,685	55	0,330	96	0,690
22	0,840	56	0,510	98	0,570
27	0,650	57	0,780	104	0,640
30	0,390	60	0,560	105	0,615
32	0,480	65	0,550	106	0,690
34	0,440	66	0,440	109	0,440
35	0,780	67	0,420	110	0,510
37	0,790	68	0,830	112	0,445
38	0,760	69	0,770	113	0,640
39	0,675	71	0,970	114	0,540
40	0,420	72	0,920	115	0,590
41	0,500	73	0,860	117	0,500

$$M = 0,638 \text{ mg}$$

$$\sigma = 0,146 \text{ mg}$$

$$\sigma_v = 0,017 \text{ mg}$$

A média calculada separadamente em 69 machos, numa distribuição que tem por valores máximos e mínimos, respectivamente, 0,970 mg por 100 ml de sangue total (obs. nº 71) e 0,330 mg por 100 ml de sangue total (obs. nº 55), foi encontrada — a $0,638 \pm 0,017$ mg por 100 ml de sangue total.

Nota-se pois que a amplitude de variação cifra-se em 0,640 mg por 100 ml de sangue total idêntica, pois, à distribuição correspondente a ambos os sexos.

TABELA III — TEORES DE ACIDO ASCÓRBICO EM SANGUE TOTAL DE EQUINOS — Fêmeas

Nº	Ácido ascórbico mg%	Nº	Ácido ascórbico mg%	Nº	Ácido ascórbico mg%
1	0,680	33	0,510	89	0,730
2	0,580	36	0,610	90	0,760
3	0,680	48	0,620	91	0,780
6	0,420	53	0,650	92	0,680
9	0,435	58	0,680	93	0,660
11	0,530	59	0,670	95	0,880
13	0,700	61	0,380	97	0,710
16	0,640	62	0,400	99	0,530
20	0,635	63	0,440	100	0,620
23	0,620	64	0,330	101	0,770
24	0,505	70	0,740	102	0,710
25	0,600	77	0,920	103	0,420
26	0,495	80	0,810	107	0,680
28	0,610	81	0,620	108	0,605
29	0,550	84	0,840	111	0,650
31	0,540	87	0,785	116	0,560

$$M = 0,625 \text{ mg}$$

$$\sigma = 0,131 \text{ mg}$$

$$\sigma_v = 0,019 \text{ mg}$$

Na tabela III enquadrámos os níveis relativos unicamente às fêmeas, em número de 48. A amplitude de variação está compreendida entre 0,330 mg por 100 ml de sangue total (obs. nº 64) e 0,590 mg por 100 ml de sangue total (obs. nº 77), atingindo, pois, a 0,590 mg por 100 ml de sangue total. A média desta distribuição é de $0,625 \pm 0,019$ mg por 100 ml de sangue total.

Os níveis de $0,638 \pm 0,017$ e $0,625 \pm 0,019$ mg de ácido ascórbico por 100 ml de sangue total, estabelecidos em machos e fêmeas, afastados apenas 0,013 mg por 100 ml de sangue, revelaram-se, quando submetidos ao test $t = 0,49$, destituídos de significação estatística. Por essa razão, a média e respectivo erro indicados na tabela I expressam-se perfeitamente na dosagem de ácido ascórbico por 100 ml de sangue total em animais puro sangue de corrida, em regime hípico.

DISCUSSÃO

De acôrdo com os valores determinados para os componentes da ração em teor de ácido ascórbico, o animal recebe diariamente uma média de 560 mg dessa vitamina.

Considerando, ademais, que os equinos fazem parte do grupo de animais capacitados a sintetizar a vitamina C, pode-se admitir que a quantidade ingerida com os alimentos é suficiente para garantir-se um teor que permita equilíbrio entre a ingestão e consumo de ácido ascórbico em condições normais de trabalho.

Ainda que não esteja bem definido o papel da vitamina C na alimentação dos equinos, certo número de pesquisadores supõe que o cavalo possa, como se disse, sintetizar vitamina C para as suas próprias necessidades orgânicas e, segundo CASSIUS WAY, pesquisas mais completas estão ainda por elucidar esta questão.

E' fóra de dúvida, entretanto, que em condições especiais, como período de monta (DAVIS e COLE), em condições de trabalho muscular intenso (THOMSON) e certamente, no decurso de moléstias febris, o consumo de vitamina C possa provocar grandes quedas do teor dessa substância no sangue.

Com efeito, WAY pôde verificar a necessidade de se administrar vitamina C, como suplementação, em período de monta, ligando a ação dessa vitamina à motilidade dos espermatozóides. A administração diária de 1 grama da vitamina C durante êsse período, era suficiente para equilibrar suas necessidades e manter o teor normal no sangue.

Em período de trabalho muscular intenso, THOMSON constatou, em equinos, que apresentavam sintomas de azotúria, quedas tão grandes no teor de vitamina C no sangue, a ponto de encontrar animais com taxas iguais a 0,000 mg%.

Reconhecida, pois, a importância da vitamina C na alimentação dos equinos e estabelecida a inexistência de dados sobre a taxa normal dessa vitamina em sangue de equinos, mediante o exame da literatura ao nosso alcance, julgamos oportuno fixar os valores normais de ácido ascórbico em apreciável número de espécimens, trabalhando com sangue total.

A propósito, cumpre referir que optamos pela determinação em sangue global, utilizando o método de Roe e Kuether, ao invés de trabalharmos unicamente com sôro ou plasma, pois, segundo os autores do método, o desaparecimento da vitamina C em caso de subvitaminose, dá-se mais rapidamente no plasma do que nas células vermelhas e brancas; por outro lado, CRANDON verificou o mesmo fenômeno em relação às plaquetas. Conclui-se, assim, que a determinação será mais representativa quando operada em sangue total.

Resulta da comparação dos valores médios por nós estabelecidos, em sangue total, com os indicados por THOMSON, trabalhando com sôro e plasma, e DAVIS e COLE, utilizando plasma, que os valores médios determinados por êsses autores são menores em relação aos por nós encontrados.

	Ácido ascórbico (mg%)		
	Sêro	Plasma	Sangue total
THOMSON	0,800 — 0,330	0,720 — 0,170	— — —
DAVIS e COLE ..	— — —	0,700 — 0,150	— — —
A. A.	— — —	— — —	0,970 — 0,330

Os valores médios encontrados por THOMSON foram 0,533 mg% em sêro, utilizando 10 exemplares, enquanto, no plasma, trabalhando com 8, a média foi de 0,588 mg% de ácido ascórbico.

DAVIS e COLE, diante dos nossos resultados apresentam médias bem mais baixas e mesmo diante dos resultados apresentados por THOMSON.

Por outro lado, o confronto dos valores médios por nós conseguidos em eqüinos, com os indicados para o homem e para algumas espécies animais, nos proporciona interessantes ensinamentos.

HAWK e BERGEIM reuniram valores obtidos por TAYLOR, CHASE e FAULKNER em sangue humano que, confrontados com os por nós obtidos, são superiores, com média 1,610 mg por 100 ml de sangue total com variação de 0,8-2,4 mg de ácido ascórbico.

BEST e TAYLOR conferem ao sangue humano o teor médio de 0,5 mg de ácido ascórbico por 100 ml de sangue total. Este teor em confronto com os por nós obtidos são menores.

Para algumas espécies animais podemos verificar pelo quadro adiante que, somente as galinhas (*Gallus gallus*) apresentam valores superiores aos conseguidos por nós, para os eqüinos.

ACIDO ASCÓRBICO NAS VARIAS ESPÉCIES ANIMAIS — VALORES REUNIDOS POR TODHUNTER E McMILLAN

	Ácido ascórbico (mg%)
Macaco	0,41
Cobaia	0,56
Cobaia	0,54
Cobaia	0,30
Coelho	0,41
Cabra	0,46
Cavalo	0,46
Égua	0,53 ± 0,17
Carneiro	0,56
Cordeiro	0,48 ± 0,21
Ovelha	0,66 — (0,43 — 0,82)
Vaca reprodutora	0,32 — (0,03 — 0,77)
Vaca leiteira	0,44 — (0,11 — 0,80)
Galinha (12 semanas de idade)	2,05 — (1,46 — 2,43)
Cão	0,25
Cão (2 meses a 6 anos — macho)	0,353 — (0,172 — 0,814)
Cadela (2 meses a 6 anos)	0,368 — (0,126 — 0,743)
Cão (6 a 14 anos)	0,353 — (0,168 — 0,591)
Cadela (6 a 14 anos)	0,306 — (0,118 — 0,620)

R E S U M O

Neste trabalho foi determinada a taxa média de ácido ascórbico em sangue total de equinos, puro sangue de corrida, alojados e em regime de vida hípica, no Jockey Club de São Paulo, Brasil.

Os animais utilizados na pesquisa eram de ambos os sexos, 69 machos e 48 fêmeas e de idades variáveis entre 2 e 8 anos.

Os valores correspondentes a animais de ambos os sexos acusaram a média de $0,633 \pm 0,013$ mg% de ácido ascórbico em sangue total.

Antes de reunir os dados referentes a ambos os sexos, procurou-se determinar os valores correspondentes a machos e fêmeas em separado. Os valores encontrados foram respectivamente $M = 0,638 \pm 0,017$ mg% e $M = 0,625 \pm 0,019$ mg% de ácido ascórbico em sangue total.

A diferença entre as médias, equivalente a 0,013 mg%, revelou-se mediante a aplicação do test t, destituída de significância estatística, o que possibilitou-nos a junção dos valores estabelecidos para ambos os sexos.

Os valores por nós obtidos para animais clinicamente sãos, em sangue total, são baixos comparados com os valores médios para o sangue humano obtidos por TAYLOR, CHASE e FAULKNER e reunidos por HAWK e BERGEIM, com a média de 1,61 mg por 100 ml com uma variação de 0,8 a 2,4 mg.

BEST e TAYLOR atribuem ao sangue humano a média normal ao redor de 0,500 mg de ácido ascórbico em 100 ml de sangue total; esta média daria ao valor médio por nós encontrado uma diferença de 0,138 mg% para mais no sangue de equinos.

Dos valores reunidos por TODHUNTER e McMILLAN, em algumas espécies, verifica-se que somente as galinhas (*Gallus gallus*) apresentam teor mais elevado que os por nós apresentados, para equinos.

S U M M A R Y

Ascorbic acid average levels in whole blood of thoroughbred race horses, have been carried out.

Sixty nine males and 48 females (which were working on races) between 2-8 years old, were studied.

The ascorbic acid averages values for both sexes were $M = 0.633 \pm 0.013$ mg%, being $M = 0.638 \pm 0.017$ for males and $M = 0.625 \pm 0.019$ mg% for females.

The difference between the averages (0.013 mg%) for males and females was without significance.

BIBLIOGRAFIA

- BEST, H. C. — TAYLOR, N. B. — 1950 — The physiological basis of medical practice: 748. 5th ed. Baltimore, The Williams & Wilkins Company
- CRANDON, J. H. — LUND, C. C. — DILL, D. B. — 1940 — *New England J. Med.*, 223: 353
- DAVIS, K. D. — COLE, C. L. — 1943 — The relation of ascorbic acid to breeding performance in horses. *Jour. Animal Sci.*, 2(1):53-8
- HAWK, P. B. — BERGELM, O. — 1937 — Practical physiological chemistry: 458. 11th ed. Philadelphia, P. Blakiston's Son & Co., Inc.
- ROE, J. H. — KUETHER, C. A. — 1943 — The determination of ascorbic acid in whole blood and urine through the 2,4-dinitro-phenylhydrazine derivative of dehydro-ascorbic acid. *Jour. Biol. Chem.*, 147:399-407
- THOMSON, W. M. — 1940 — An interpretation of the clinical and laboratory findings in azoturia. *Cornell Vet.*, 30:341-9
- TODHUNTER, E. N. — McMILLAN, T. J. — 1946 — The acid ascorbic content of whole blood plasma of normal rats with evidence of a sex difference. *Jour. Nutrition*, 31(5):573-80
- WAY, C. — 1941 — The importance of vitamin-mineral supplements in equine nutrition. *J. A. V. M. A.*, 99(773):121-9