

DEPARTAMENTO DE HISTOLOGIA E EMBRIOLOGIA

Director: Prof. Dr. Antonio Guimarães Ferri

LEUCOGRAMA EM EQUINOS PURO SANGUE INGLÊS *

(LEUKOGRAM IN THOROUGHBRED HORSES)

L. F. MARTINS
Prof. Assistente

M. TOKUMARU
Instrutor

L. O. MEDEIROS
Instrutor

A importância do leucograma das diferentes espécies animais, na clínica médica veterinária, decorre de ser o mesmo sede de alterações em virtude de fatores os mais diversos, particularmente patológicos.

No que se refere à espécie equina, vários autores se interessaram pela análise do quadro leucocitário normal e variações que poderiam ocorrer em função das mais diversas causas.

MACLEOD e col. (11) e STEEL e WHITLOCK (21) assinalaram que os equinos Puro Sangue Inglês apresentavam número de leucócitos maior que os de outras raças, enquanto MARZORATI e MICHÍ (12) não encontraram variações entre os diferentes tipos de leucócitos.

STANKIEWICZ e col. (20) confirmaram trabalhos anteriores (11, 21), verificando ainda que a percentagem de linfócitos era menor nos cavalos Puro Sangue Inglês.

A influência da idade sobre o número de leucócitos na espécie equina foi analisada por MACLEOD e col. (11), que observaram número de linfócitos mais elevado nos animais de um ano, fato confirmado por SCHLISHTING e col. (17), os quais demonstraram ainda serem os eosinófilos também mais numerosos, o inverso ocorrendo com neutrófilos segmentados e bastonetes.

Para ARCHER (2), de jovens para adultos a taxa leucocitária não varia grandemente, porém, há diminuição dos neutrófilos e aumento de eosinófilos.

* Este trabalho foi realizado com o auxílio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo e do Jockey Club de São Paulo.

A alimentação (10, 3) e outros fatores fisiológicos como a lactação (9, 22), gestação (4, 6, 22) ao que parece, podem ocasionar também variações no quadro leucocitário, apesar de existirem opiniões discordantes.

A excitação, segundo STEEL e WHITLOCK (21) eleva o número de leucócitos, bem como o exercício físico (1).

A influência do sexo sobre o quadro sanguíneo dos eqüinos tem sido tema de inúmeras pesquisas, existindo marcada controvérsia no que se refere aos leucócitos.

HANSEN e col. (8) não conseguiram detectar diferenças entre machos e fêmeas, enquanto SANTOS (16) verificou que o número de leucócitos era menor nos primeiros. Para FERRI e col. (5) os machos P.S.I. apresentam número de neutrófilos e eosinófilos mais elevados que as fêmeas, o inverso ocorrendo em relação aos linfócitos, embora não difiram quanto ao número global.

Quanto à influência que possa o quadro leucocitário apresentar sobre os resultados obtidos por animais em competição, a literatura consultada mostrou ausência de qualquer observação, embora seja o mesmo um reflexo sempre importante do estado de sanidade do animal.

O presente trabalho tem por finalidade contribuir para melhor conhecimento das diferenças que porventura existam no quadro leucocitário em função do sexo e procurar testar sua possível relação com a capacidade competitiva dos eqüinos Puro Sangue Inglês.

MATERIAL E MÉTODOS

O material para o presente trabalho constou de sangue de 120 eqüinos P.S.I., com idades variando de 3 a 5 anos hípicas, os quais eram submetidos a exercícios físicos regulares e regime alimentar semelhante e estavam alojados no Jockey Club de São Paulo.

Os animais foram divididos em dois grupos, que receberam a denominação de vencedores e perdedores.

A seleção para os referidos grupos foi feita tomando-se por base tempos considerados mínimos e máximos para as provas de 1.400 e 1.500 metros, areia leve, sendo admitidos como vencedores os que alcançavam tempo inferior ao índice mínimo e perdedores os que ultrapassavam o estabelecido como máximo.

Os índices para classificação dos animais como vencedores ou perdedores foram calculados em função dos resultados obtidos por 200 animais colocados em 1.º e 2.º lugares e igual número nos dois últimos postos em cada uma das provas anteriormente mencionadas.

O levantamento dos dados foi realizado junto aos arquivos da Comissão de Corridas do Jockey Club de São Paulo. Como apenas o resultado do 1.º colocado é expresso em tempo e o dos demais, em corpos em relação a este, foi feita a transposição dos corpos em tempo, empregando-se para isso o "photochart".

A fim de verificar-se a validade do critério adotado, foram analisados os dados obtidos para os primeiros e últimos colocados, como cuidado preliminar no delineamento do próprio experimento. A análise estatística, realizada para comparação desses valores, demonstrou diferença significativa entre as médias, ao nível de 5%, tornando válido o seu emprêgo na seleção dos animais.

Após as provas de 1.400 e 1.500 metros, arca leve, o tempo do 1.º colocado era determinado por cronometragem e o dos demais, pelo "photochart", selecionando-se, assim, os competidores que se enquadravam dentro das características pré-estabelecidas para a amostragem.

Os animais permaneciam em repouso por 16-20 horas depois da corrida, quando então o sangue era coletado, desprezando-se os cavalos que, sabidamente, haviam sido mal sucedidos por razões adversas, como, por exemplo, indocilidade na partida.

O material foi colhido da veia jugular, no período da manhã, antes que os animais recebessem a primeira ração, evitando-se qualquer manobra que os pudesse excitar. Para contagem global de leucócitos o material foi colhido em frascos especiais silicizados, contendo o sal dissódico do ácido etileno-diamino-tetracético (E.D.T.A. — sequestrene) em solução a 10%, na proporção de 10 mg de sal para 5 ml de sangue, conforme indicação de ROSENFELD (15).

Com o sangue "in natura", imediatamente após a coleta, foram feitos esfregaços para posterior coloração e contagem diferencial dos leucócitos.

Na realização da contagem global, após agitação mecânica do frasco que continha o sangue, em agitador "Kahn", era o mesmo coletado em pipetas hematimétricas, fazendo-se suspensão de 1/20, com líquido de Thoma. Após 2 minutos de homogeneização em agitador "Clay-Adams", era desprezado cerca de 1/3 do conteúdo da pipeta e a contagem realizada em câmara de Neubauer, sobre área de 4 milímetros quadrados.

Para contagem diferencial os esfregaços foram corados pelo corante de ROSENFELD (14), segundo a técnica preconizada pelo autor (13). A contagem foi feita sobre 200 células.

Foram calculadas as distribuições das variáveis estudadas em cada grupo do experimento.

As comparações entre vencedores e perdedores, e entre sexos, para o número global de leucócitos, foram realizadas através o teste não paramétrico de Mann Whitney, conforme SIEGEL (18), uma

mesmas comparações da contagem diferencial, foi empregado o teste não peramétrico de Mann Whitney, conforme SIEGEL (18), uma vez que, feito o teste de aderência à normal de Colmogoroff, como indicado por GNEDENKO(7) rejeitou-se a hipótese de normalidade. Foram desprezados os basófilos nestas análises, uma vez que os valores são calculados em termos percentuais e são interdependentes, tornando-se conhecido o último valor automaticamente, perdendo-se daí um grau de liberdade.

O nível de rejeição para as comparações foi de 5%.

RESULTADOS

Os resultados obtidos encontram-se nas tabelas I, II, III, IV e V.

DISCUSSÃO

A análise dos resultados obtidos no que se refere à influência do sexo sobre o quadro leucocitário demonstra não existir diferenças entre machos e fêmeas quanto ao número global de leucócitos, tanto no grupo de vencedores, como no de perdedores, o que contradiz os resultados de SANTOS (16) e confirma os de FERRI e col. (5) e HANSEN e col. (8).

Quanto à contagem diferencial, tanto em percentagem como em valores absolutos, os linfócitos mostram-se em maior número nas fêmeas em ambas as categorias, o que corrobora as verificações de FERRI e col. (5), enquanto que os monócitos aparecem em maior número nos machos. Por outro lado, os eosinófilos são mais numerosos nos machos, porém, somente entre os perdedores houve diferença significativa. Estas observações confirmam também achados dos autores supra citados e, talvez, o maior número nos machos esteja relacionado ao menor teor de corticosteróides que estes poderiam apresentar, desde que, como é sabido, tais hormônios ocasionam diminuição dos eosinófilos, na corrente circulatória.

Quanto às comparações entre vencedores e perdedores, tanto o número global como o dos diferentes tipos de leucócitos, em percentagem ou valores absolutos, não mostraram diferenças para animais do sexo masculino, devendo-se salientar, porém, que apesar de não haver significância, verificou-se tendência acentuada para um maior número de monócitos. Entre as fêmeas, esta mesma célula, mostrou-se significativamente em número mais elevado nas vencedoras. Como os monócitos se apresentam em maior número nos processos reativos das mucosas e tendo em vista a ausência de dados na literatura, os resultados não puderam ser comparados nem tampouco alguma hipótese explicativa pode ser aventada.

TABELA I --- Leucograma, em números percentuais, de equinos P.S.I. vencedores

	Leucócitos mm ³		N. Bastonete %		N. Segmen- tado %		Neut. totais %		Eosinófilo %		Basófilo %		Linfócito		Monócito %	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
Média	9300	9550	3,40	3,20	57,30	54,50	60,70	57,70	2,40	1,50	0,60	0,30	31,10	37,00	5,20	3,50
Desvio padrão	1430	1416	2,33	2,04	5,50	7,76	5,27	7,04	2,07	1,76	0,53	0,40	5,20	7,91	2,79	2,18
Coef. variabilidade	0,15	0,15	0,69	0,66	0,10	0,14	0,09	0,12	0,86	1,17	0,88	1,33	0,17	0,21	0,54	0,62
Mediana	9025	9600	2,25	2,75	56,25	55,50	60,25	58,50	2,00	1,00	0,50	0,00	31,25	37,00	5,00	3,00

TABELA II — Leucograma, em números absolutos de equinos P.S.I. vencedores

	Leucócitos		N. Bastonete		N. Segmen- tado		Neut. totais		Eosinófilo		Basófilo		Linfócito		Monócito	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
Média	9300	9550	314	300	5331	5193	5641	5512	224	152	53	30	2984	3538	478	339
Desvio padrão	1430	1416	215	199	959	937	982	1063	212	187	52	43	725	897	245	227
Coef. variabilidade	0,15	0,15	0,69	0,66	0,18	0,18	0,17	0,19	0,95	1,23	0,97	1,43	0,25	0,25	0,51	0,67
Mediana	9025	9600	277	223	5369	5302	5590	5503	168	107	45,0	0,0	2732	3425	422	258

TABELA III — Leucograma, em valores percentuais, de equinos P.S.I. perdedores

	Leucócitos		N. Bastonete		N. Segmentado		Neut. totais		Eosinófilo		Basófilo		Linfócito		Monócito	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
Média	9150	9600	2,23	3,48	55,62	51,93	57,70	55,42	2,07	1,13	0,27	0,20	34,70	40,90	4,75	2,25
Desvio padrão	1600	1192	2,01	2,16	7,82	9,50	6,65	9,39	1,98	0,92	0,36	0,50	8,25	9,81	2,16	1,62
Coef. variabilidade	0,17	0,12	0,90	0,62	0,14	0,18	0,12	0,17	0,96	0,81	1,33	2,50	0,24	0,24	0,45	0,72
Mediana	9000	9450	1,50	3,00	55,00	54,00	56,00	57,00	1,50	1,00	0,00	0,00	34,00	39,75	4,25	2,00

TABELA IV — Leucograma, em valores absolutos, de equinos P.S.I. perdedores

	Leucócitos		N. Bastonete		N. Segmentado		Neutr. totais		Eosinófilo		Basófilo		Linfócito		Monócito	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
Média	9150	9600	205	324	5055	4938	5226	5310	199	111	23	20	3164	3917	421	218
Desvio padrão	1600	1192	192	191	1039	1221	1034	1145	232	96	33	55	960	1084	172	178
Coef. variabilidade	0,17	0,12	0,94	0,59	0,21	0,25	0,20	0,22	1,17	0,86	1,43	2,75	0,30	0,28	0,41	0,82
Mediana	9000	9450	141	296	4745	4932	5503	4955	118	89	0,0	0,0	3252	3791	445	181

TABELA V — Valores de *t* e *z* para os diferentes contrastes no leucograma de equino P.S.I.

	Leucócitos	Neutrófilos totais		Eosinófilo		Linfócito		Monócito	
		N.º absoluto	%	N.º absoluto	%	N.º absoluto	%	N.º absoluto	%
MV X FV	0,38	1,67	1,89	0,74	0,61	1,20	1,56	0,65	0,62
FV X FF	0,14	0,68	1,10	0,05	0,45	1,51	1,65	2,29	2,48
MV X FV	0,68	0,40	1,52	1,69	1,89	2,98	3,26	2,23	2,60
MP X FF	1,24	1,20	0,74	4,62	2,13	2,50	2,21	4,45	4,59
	<i>t</i> = 2,00	<i>z</i> = 1,96							

MV = macho vencedor

MP = macho perdedor

FP = fêmea perdedora

FV = fêmea vencedora

SUMMARY

Tests of global counting and differential of leukocytes were done on 120 Thoroughbred horses. These equines were divided in 2 groups considered winners and losers and separated according to the sexes. Comparisons between males and females, losers and winners were done.

The statistic analyses showed:

1 — The males do not differ from the females according to the global number of leukocytes for the group of winners and losers.

2 — The females showed a higher number of leukocytes and a lower number of monocytes than the males of both groups.

3 — The males showed a higher number of eosinophils than the females only for the losers.

4 — The male and female winners do not differ in the global number of the leukocytes.

5 — The number of monocytes is higher for the winners than for the losers but only for the females the differences are significant.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 — ALEXANDROVA, A. — 1952 — Konyedodstvo, Moscow, 11: 30. Cit. Sréter, F. A. — 1959 — The effect of systematic training on plasma electrolytes, hematocrit value, and blood sugar in thoroughbred race-horses. *Canad. J. Biochem. Physiol.*, Ottawa, 37(2):273-283.
- 2 — ARCHER, R. K. — 1959 — The normal haemograms and coagulograms of the English Thoroughbred horse. *J. Comp. Path. Ther.*, Croydon, 69(4): 390-399.
- 3 — ARENDARCICK, J. & MIKLUSICAK — 1958 — Zmeny Niektorych Hematologických Ukazovatelov u Koni a Rozneko Statku Po Naki-meni. *Vet. Cas.*, Praga, 7(3): 293-302.
- 4 — BOGUTH, W. — 1953 — Papierelektrophoretische Serumuntersuchungen bei Haussäugetieren. *Zbl. Vet. Med.*, Berlin, 1: 168-187.
- 5 — FERRI, S.; GOMES, C. E. S. & MARTINS, L. F. — Quadro hemático no cavalo Puro Sangue Inglês. (A ser publicado).
- 6 — FUJIOKA, F. & MATSUSHITA, H. — 1962 — The electrophoretic studies of serum protein. II. On pregnant mare serum. *Bull. Azabu vet. coll.*, Kanagawa-Kem, 10: 75-79.

- 7 — GNEDENKO, B. T. — 1962 — The theory of probabilities. New York, Chelsea Publication, p. 393-394.
- 8 — HANSEN, M. F.; TODD, A. C.; CAWEIN, M. & MCGEE, W. R. — 1950 — Studies on the hematology of the Thoroughbred horse. II. Weanlings. *Amer. Jour. vet. Res.*, Chicago, 11(41): 393-396.
- 9 — HANSEN, M. F.; TODD, A. C. & MCGEE, W. R. — 1950 — Blood picture of lactating and non lactating Thoroughbred mares. *Vet. Med.*, Kansas, 45(6): 228-230.
- 10 — KEESE, H. — 1926 — Die Schwankungsbreite der durch verschiedene chemischphysikalische untersuchungsmethoden erfaßbaren Eigenschaften des Blutes des Pferdes unter physiologischen Bedingungen. *Biochem. Z.*, Berlin, 178: 184-207.
- 11 — MACLEOD, J.; PONDER, E.; AITKEN, G. J. Jr. & BROWN, R. B. Jr. — 1947 — The blood picture of the Thoroughbred horse. *Cornell Vet.*, Ithaca, 37(1): 305-313.
- 12 — MARZORATI, A. & MICHI, V. — 1956 — Le proteine seriche nel Puro Sangue. *Profilassi*, Milano, 29: 109-116.
- 13 — ROSENFELD, G. — 1947 — Método rápido de coloração de esfregacos de sangue. Noções práticas sobre corantes pancrômicos e estudo de diversos fatores. *Mem. Inst. Butantan*, São Paulo, 20: 315-328.
- 14 — ROSENFELD, G. — 1947 — Corante pancrômico para hematologia e citologia clinica. Nova combinação dos componentes do May-Grünwald e do Giemsa num só corante de emprêgo rápido. *Mem. Inst. Butantan*, São Paulo, 20: 329-334.
- 15 — ROSENFELD, G. — 1955 — Etilenediamina tetracética dissódica (EDTA) como anticoagulante para técnica hematológica. *Rev. Clin. S. Paulo*, 31(3-4): 65-71.
- 16 — SANTOS, R. — 1960 — Determinações hematológicas em cavalos P.S.I. antes e depois do exercício muscular. Tese. Escola Superior de Agricultura e Veterinária, Curitiba, Paraná.
- 17 — SCHLISHTING, M.; SANDERS, R. & GARDNER, M. — 1956 — The blood picture of the 200 Thoroughbreds. *Vet. Med.*, Kansas, 51(4): 151.
- 18 — SIEGEL, S. — 1956 — Nonparametric statistics for the behavioral Sciences. New York. Mc Graw-Hill Book Co., Inc.
- 19 — SNEDECOR, G. W. — 1956 — Statistical methods. 5th ed. Ames, Iowa States University Press. p. 116-127.
- 20 — STANKIEWICZ, W.; MARKIEWICZOWA, Z. & MALINOWSKI, W. — 1960 — Hematologiczne badania koni pelnejkrwi i rasy Fiording. *Med. Vet.*, Varsovie, 16(10): 594-598.

- 21 — STEEL, J. D. & WHITLOCK, L. E. — 1960 — Observations on the haematology of Thoroughbred and Standardbred horses in training and racing. *Australian vet. J.*, Sydney, 36(4): 136-142.
- 22 — TRUM, B. F. — 1952 — Normal variances in horse blood due to breed, age, lactation, pregnancy and altitude. *Amer. J. vet. Res.*, Chicago, 13(49): 514-519.