

INDICADORES HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS NA AVALIAÇÃO DA PERFORMANCE DE EQUÍNOS ATLETAS*

Introdução

Para a avaliação da performance de equínos atletas, é necessário que se forme uma parceria entre o veterinário e o laboratório que processará as amostras. A escolha deste laboratório deve seguir alguns critérios importantes. O veterinário deve fazer a coleta do material tendo o cuidado de seguir os procedimentos adequados; identificar e enviar as amostras corretamente para o laboratório. Para a interpretação correta dos resultados deve se levar em consideração que a avaliação é feita em animais sadios; podendo ser avaliados os perfis de crescimento, nutricional, reprodutivo ou performance onde busca-se encontrar valores normais ou deficiências que possam existir.

Escolha do laboratório

1- Espécie: deve-se optar por um laboratório que tenha bastante experiência com a espécie que queremos avaliar; no caso equínos. Os valores, principalmente hematológicos, variam muito quanto à espécie. Os contadores automáticos geralmente não estão calibrados para o tamanho das hemácias dos cavalos e algumas determinações bioquímicas tem protocolo diferente de outras espécies.

2- Tipo de exame: quais exames que o laboratório pode realizar. Deve-se escolher um laboratório que possa abranger as mais diversas áreas: hematologia, bioquímica, bacteriologia, patologia, imunologia, etc. facilitando assim o encaminhamento de amostras para um só local.

3- Metodologia empregada: algumas variações na metodologia, podem afetar a faixa de normalidade de alguns exames. A concentração de eletrólitos no soro, plasma ou outros líquidos do corpo será significativamente mais elevada (5 a 8%), se são empregados eletrodos específicos para a determinação ao invés de outros procedimentos (fotometria de chama, titulação automática ou espectrofotometria de absorção). Estas diferenças, embora relativamente pequenas, são consistentes, devendo ser apreciadas para a correta avaliação dos dados eletrolíticos, ou do intervalo osmolar calculado.

* Seminário apresentado na disciplina BIOQUÍMICA DO TECIDO ANIMAL do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul pela aluna ELIZABETH CALDAS SOARES, no primeiro semestre de 2004. Professor responsável pela disciplina: Félix H.D. González.

Os valores das enzimas séricas são expressos como atividades, com base na velocidade de consumo do substrato, geração de produto ou velocidade na alteração da concentração de cofator; estes valores com frequência variam sensivelmente, de um laboratório para outro. Esta variação pode ser o resultado de variações relativamente pequenas de pH, concentração de substrato ou cofator, ou tempo ou temperatura usados para a determinação. Estes fatores podem facilmente resultar em diferenças de 5 a 10 vezes na faixa de normalidade de certas atividades enzimáticas, entre laboratórios que usam metodologias similares, mas não idênticas.

4- Unidade de medida: outro fator que tem se constituído num importante problema é a marcante variação nas unidades de medidas empregadas para a expressão das atividades de diferentes enzimas séricas. O método-padrão de representação da atividade das enzimas séricas é a unidade internacional por litro (UI/l).

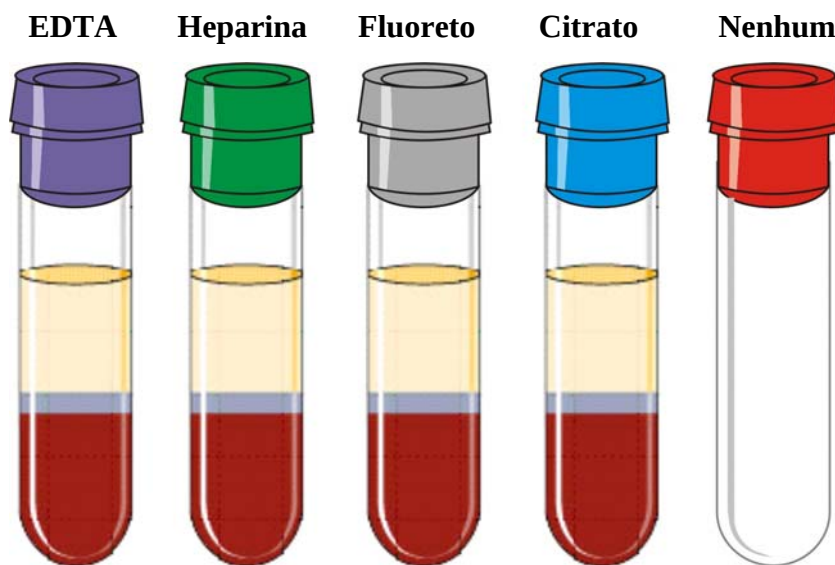
Coleta do material

Muitos fatores influenciam os resultados obtidos na análise laboratorial. Dois importantes fatores são a coleta e a manipulação da amostra. O local de coleta da amostra (veia jugular, veia mamária ou artéria carótida) pode exercer importante efeito sobre os resultados dos teste, como: avaliação dos gases sanguíneos, glicose, ou corpos cetônicos.

Para a coleta o animal deve estar em jejum, pois a alimentação pode causar impacto nos dados obtidos. O fornecimento de feno, é descrito como capaz de afetar as concentrações de sódio, potássio e proteína dentro das primeiras horas após a ingestão. Animais que estão se alimentando com verde fresco podem apresentar parâmetros ligeiramente diferentes dos que estão se alimentando à base de ração altamente concentradas.

A escolha dos anticoagulantes depende de se as amostras são para determinações no soro, plasma ou sangue integral. O soro é exigido para a maior parte das determinações químicas. Heparina é o anticoagulante de escolha para a maior parte das determinações que requerem plasma. Fluoreto tem sido usado como o anticoagulante de escolha para a determinação da glicemia, visto que tal agente interrompe a glicólise ao nível das hemácias, evitando a rápida depleção de glicose que ocorre se as amostras de sangue integral são deixadas repousando à temperatura ambiente. Fluoreto pode interferir com certos procedimentos químicos (especificamente o método da glicose

oxidase para a determinação da glicemia), devendo ser empregado apenas em circunstâncias selecionadas, quando são necessárias determinações de glicose, e as amostras deverão permanecer por algum tempo sem refrigeração. Citrato é o anticoagulante de escolha para certas determinações hematológicas (especialmente para os testes de coagulação e tipagem sangüínea). O ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) é o anticoagulante mais freqüentemente empregado nas avaliações hematológicas, mas tanto o citrato quanto o EDTA são agentes quelantes, que interferem com uma série de determinações químicas. Os tubos obedecem à seguinte convenção de cores:



Identificação e envio

Na identificação do material coletado deve constar o nome do animal. Junto com o material coletado deve seguir uma ficha com dados específicos como: nome do animal, espécie, raça, idade, sexo, nome do proprietário, nome do veterinário, data e hora da coleta, alguns sinais clínicos se houver, tipo de atividade deste animal, telefone para contato e principalmente qual o exame solicitado.

As amostras devem ser enviadas o mais breve possível, em recipiente que conservem temperaturas constantes (nem muito altas, nem muito baixas).

O médico veterinário deve informar se durante a coleta do material ocorreu algum problema de tensão por parte do animal pois, tensão, transporte, excitação e manipulação produzem respostas fisiológicas, capazes de afetar uma série de parâmetros hematológicos e bioquímicos. Isto é mais evidente no cavalo, que mostra

marcantes elevações nos parâmetros eritrocitários, e, numa menor extensão, na concentração das proteínas plasmáticas em resposta ao exercício, excitação ou administração de catecolaminas. A hematimetria e concentração de hemoglobina podem aumentar em 50%, enquanto que a concentração das proteínas plasmáticas podem aumentar em 1 a 2 g/dl. Uma leucocitose é induzida, com a mobilização do grupamento leucocitário marginal para a circulação geral.

Tabela 1. Tipos de anticoagulantes e sua aplicação.

Anticoagulante	Amostra	Teste
EDTA	sangue total	hemograma, plaquetometria
	sangue total	selênio sangüíneo
	plasma	cortisol, proteína e fibrinogênio
Heparina	sangue total	pH e gases sangüíneos
	plasma	eletrólitos e osmolaridade
	líquido sinovial	teste de coagulação da mucina
Fluoreto/oxalato	plasma	glicose, lactato
Citrato	sangue total	tipagem sangüínea
	plasma	teste de coagulação sangüínea,
Nenhum	soro	a maior parte das análises químicas, eletrólitos, osmolaridade, cortisol, T ₃ , T ₄ , eletroforese das proteínas, IgG, IgM e IgA.

Uma tensão prolongada resulta na liberação de corticosteróides endógenos, que produzem a típica “resposta de tensão” no leucograma. A combinação de liberação de catecolaminas e glicocorticóides, associada à tensão, transporte e excitação, bem como a muitos distúrbios gastrointestinais graves, pode resultar em concentrações glicêmicas marcadamente elevadas (até 400 mg/dl). Modestas elevações (duas a quatro vezes o normal) nas enzimas derivadas do músculo ocorrem em associação ao prolongado transporte ou exercício vigoroso.

Avaliação de animais sadios

1- Crescimento

O crescimento é um processo que envolve a multiplicação e em menor grau o aumento de tamanho das células de diferentes tecidos corporais. Esta multiplicação demanda de muitos metabólitos, a deficiência de algum, pode causar falhas no crescimento. No que diz respeito à clínica de eqüinos jovens o crescimento ósseo é de fundamental importância, mais especificamente, as placas epifisiárias. Para isto o clínico deve observar a suplementação mineral e ganho de peso dos animais em crescimento, potros muito pesados sobrecarregam os membros podendo ocorrer epifisites.

Para se traçar um perfil individual de um potro, os dados da hematologia nos indicarão quanto à níveis de proteínas, anemias e doenças infecciosas. Animais jovens são suscetíveis a ação dos parasitas, um exame parasitológico de fezes a cada três meses, acompanhado de uma dosagem de proteínas totais e fibrinogênio, nos dá um bom suporte para analisar o desenvolvimento deste animal durante esta fase tão importante. A redução no crescimento ou ganhos de peso inferiores ao normal geralmente ocorrem simultaneamente; contudo, ocasionalmente ocorrem separadamente. O potencial de crescimento e ganho de peso é geneticamente determinado. Ele difere segundo a espécie, raça, e sexo.

2- Reprodução

Na reprodução pode-se contar com a avaliação do perfil hormonal, avaliação de doenças causadoras de infertilidade, ou aborto, ou ainda reabsorção embrionária. Mas quando se avalia problemas de fertilidade, tanto na fêmea quanto no macho, deve-se observar o manejo da propriedade, descartando desta maneira, problemas de ordem simples como divisão de poteiros, identificação de cio, manejo com o garanhão na cobertura ou coleta de material; estado nutricional destes animais. Estes são problemas simples fáceis de contornar.

Depois de avaliar toda a questão de manejo e alimentação dos animais, pode-se partir para uma avaliação mais aprofundada. Analisar se o problema é coletivo ou individual, se a falha é nos machos ou nas fêmeas; e assim reduzir as possíveis causas até chegar a uma análise laboratorial do, ou dos indivíduos identificados.

3- Performance

a) Hematologia

Os exames hematológicos estão entre os mais práticos, econômicos e de maior utilidade na prática clínica. Isto porque o tecido sangüíneo tem por função principal manter a homeostase corpórea; deste modo é um “espelho” do animal no momento da coleta.

A característica mais importante do hemograma do cavalo é que o número de hemácias circulantes é altamente instável devido à grande reserva delas no baço que prontamente se contrai sob influência de emoções, medo ou atividade muscular, liberando as hemácias para a circulação. Quando isto acontece, em questão de minutos, o hematócrito e a contagem de hemácias podem subir em até 30%. Por isto, devemos coletar o sangue pela manhã, ao abrir a cocheira, antes de escovar ou oferecer comida ao animal.

A coleta deve ser feita por punção da jugular em tubo de sangue para coleta à vácuo com tampa roxa, que utiliza EDTA como anticoagulante. Após a coleta, o tubo deve ser agitado suavemente por inversão por várias vezes para que se obtenha uma mistura homogênea do sangue com o anticoagulante.

O EDTA é o anticoagulante escolhido porque conserva bem as células por muitas horas e permite que a lâmina que será utilizada para a contagem diferencial do leucograma, seja feita dentro do laboratório. As amostras devem ser encaminhadas logo ao laboratório, preferencialmente refrigeradas e nunca podem ser congeladas, também nunca deixe as amostras dentro do carro sob calor intenso.

O hemograma completo divide-se em duas partes: o eritrograma que avalia o número de hemácias, a hemoglobina, o hematócrito e a interrelação entre eles, a proteína total e o fibrinogênio e a velocidade de hemossedimentação; e o leucograma, que avalia o número de células brancas (leucócitos) e a contagem diferencial destas células.

Eritrograma: No cavalo a eritropoiese (formação de glóbulos vermelhos) é completada na medula óssea, por isto é raro encontrarmos células jovens na circulação. Os eritrócitos são retidos na medula óssea, até que a síntese de hemoglobina se tenha completado; assim, policromasia (reticulocitose), macrocitose e outros sinais de regeneração da medula óssea, manifestados por outras espécies, são extremamente raros em cavalos. Corpúsculos de Howell-Jolly podem ocorrer em pequeno número de

eritrócitos no cavalo são, e sua presença não indica anemia reativa, como é o caso em outras espécies.

O estímulo fundamental para a eritropoiese é a tensão tecidual de oxigênio. A hipóxia tecidual estimula a produção de eritropoietina, um fator humoral especificamente relacionado à produção de eritrócitos. O rim, através de suas células cortico-endoteliais, glomerulares e intersticiais é o principal órgão na produção da eritropoietina nas diversas espécies e o único responsável por esta função no cão. A eritropoietina é gerada através da ativação do eritropoietinogênio, uma alfa2-globulina produzida no fígado, pelo fator eritropoiético renal (FER) ou eritrogenina; ou ainda pela ativação de proeritropoietina produzida pelo rim por um fator plasmático, segundo alguns autores. A eritropoietina é encontrada no plasma, urina, leite e outros fluídos, incluindo o líquido amniótico. A eritropoietina estimula a eritropoiese em vários estágios por indução da diferenciação de células progenitoras eritróides a rubriblastos, estimulando a mitose de células eritróides e reduzindo o tempo de maturação.

Vários órgãos endócrinos influenciam a eritropoiese, principalmente através de seus efeitos na síntese de eritropoietina. A hipófise media este efeito com a produção de prolactina, TSH, ACTH e hormônio de crescimento; a adrenal através da produção de corticosteróides; a tireóide pela tiroxina; e as gônadas pelos andrógenos e estrógenos. Somente os estrógenos, em doses altas, possuem influência negativa na síntese de eritropoietina.

Para que ocorra adequada multiplicação eritrocitária, há a necessidade também de substrato para possibilitar a divisão celular, principalmente do material nucléico. Constituem maior importância a vitamina B₁₂, o ácido fólico, o cobalto e o ácido nicotínico. Na fase de maturação eritrocitária, o RNA mensageiro ribossômico encarrega-se da hemoglobinizacão citoplasmática. Neste estágio são importantes o ferro na forma ferrosa (2+), o cobre e a piridoxina (B₆).

Os eritrócitos eqüinos exibem uma tendência para marcante formação em “rouleaux” (alinhamento/empilhamento como pilha de moedas), o que faz com que as células se separem rapidamente do plasma (elevada taxa de sedimentação). Esta característica necessita cuidadosa mistura do sangue no frasco da amostra, antes da análise, devendo ser diferenciada da auto-aglutinação.

Embora a hiperbilirrubinemia faça com que o plasma se torne mais intensamente amarelo ou alaranjado, o plasma eqüino é normalmente amarelo (ictérico).

Os valores de referência para o número total de hemácias giram em torno de 8-10 milhões/mm³ para animais puro sangue inglês (PSI) submetidos a treinamento intenso. Já animais em descanso, apresentam contagem bem menor, em torno de 7-8 milhões/mm³.

A hemoglobina é essencial para a manutenção da vida pois carrega e libera oxigênio para os tecidos. Em torno de 400 milhões de moléculas de hemoglobina estão presentes num eritrócito. A hemoglobina é uma proteína conjugada composta de frações heme e globina, formando um tetrâmero. Cada molécula consiste de quatro unidades heme, cada uma destas associada a uma cadeia simples de globina, que possui arranjo espacial em alfa hélice. Cada heme possui um anel de protoporfirina com um átomo de ferro ferroso ao centro.

A fração heme é sintetizada na mitocôndria eritrocitária, e somente é produzida em células eritróides imaturas, até o estágio de reticulócito. Eritrócitos maduros de mamíferos não podem sintetizar heme pois não possuem mitocôndrias. A síntese da fração globina ocorre em ribossomos no citoplasma de eritrócitos nucleados. As diferenças nas seqüências de aminoácidos das cadeias globinas define as variações morfológicas intra e inter-espécies.

A síntese final de hemoglobina na hemácia acontece com a penetração do ferro a partir da transferrina, com sua associação à protoporfirina que é sintetizada em grande parte da glicina e succinil CoA nas mitocôndrias, para formar o heme. Uma molécula de heme fixa-se à uma das cadeias do polipeptídeo globina e uma molécula final de hemoglobina é composta de quatro unidades heme/globina.

A hemoglobina é liberada na forma livre quando ocorre hemólise, onde a união entre a hemoglobina e o estroma eritrocitário quebram-se por este agente hemolítico. A hemoglobina livre no plasma é rapidamente decomposta (meia vida 4 horas) por oxidação, liga-se à haptoglobina e é rapidamente excretada pelos rins ou destruída pelo sistema fagocítico mononuclear (SFM). O excesso livre é oxidado em meta-hemoglobina, que se dissocia e libera hematina. A hematina liga-se à hemopexina e albumina sucessivamente, e estes complexos são removidos pelos hepatócitos. Nos macrófagos o ferro da fração heme e os aminoácidos da fração globina são reciclados para uso. Os valores de hemoglobina se situam entre 13 a 15g/dl para o PSI atleta e um pouco menos para os outros.

O hematócrito corresponde à fração celular e sua relação com o total de volume sanguíneo expresso em porcentagem. O valor esperado para o PSI atleta está entre 38 e

45%, diminuindo também para animais fora de treinamento. Animais submetidos a treinamento de tiro (basicamente anaeróbico) como o Quarto de Milha de corrida, apresentam padrão intermediário entre o PSI e o animal em descanso. Os animais de salto e adestramento já possuem um valor mais baixo, entre 32 e 36%. É interessante observar que o regime de treinamento é um dos fatores mais importantes que se reflete no padrão do eritrograma.

As características individuais também são relevantes na interpretação dos resultados. Alguns animais fogem dos padrões de normalidade que estabelecemos para as categorias e apresentam excelente performance com resultados de hemograma aparentemente insatisfatórios, como uma contagem de hemácias baixa por exemplo, ou um hematócrito persistentemente alto. Ao se conhecer o padrão do animal e da categoria, podemos fazer o acompanhamento do treinamento e determinar quando o animal está na sua melhor forma.

A análise do eritrograma nos permite diagnosticar diversos tipos de anemia ou ainda a presença de desidratação. O acompanhamento da contagem é fundamental na avaliação do treinamento, pois qualquer alteração poderá levar a fracassos inesperados. Quando detectadas, as alterações podem ser corrigidas antes das provas, sendo mais fácil manter o animal no pico da performance.

Uma outra característica interessante da espécie eqüina é a estabilidade do VCM (volume corpuscular médio). O volume das hemácias do cavalo se mantém dentro de limites rígidos, mesmo na presença de doenças, de tal forma que um aumento no hematócrito quase certamente corresponde a um aumento do número de hemácias e não ao aumento do volume destas.

A dosagem de proteína complementa o eritrograma e é muito importante para constataremos níveis nutricionais e desidratação. Os valores normais estão entre 5,8 e 6,5g/dl.

O fibrinogênio é uma proteína produzida no fígado e é essencial para a coagulação e esta envolvido nos processos inflamatórios. A dosagem de fibrinogênio é muito útil no acompanhamento de infecções pois sua dosagem é mais confiável que o número de leucócitos, estes sofrem oscilações diárias e o fibrinogênio já é mais estável. Os valores normais estão entre 100 e 400mg/dl.

A velocidade de hemossedimentação é um bom parâmetro para avaliar performance, pois ela é inversamente proporcional com o estado do animal. Quanto

menor a velocidade de hemossedimentação, melhor é o estado do animal; a desidratação e a excitação na hora da coleta influenciam os resultados.

Leucograma: A avaliação do leucograma é feita em três etapas: contagem total do número de leucócitos, contagem diferencial de cada tipo de célula e avaliação da morfologia dos leucócitos.

Leucócitos ou células brancas do sangue, são divididos em duas categorias principais: leucócitos polimorfonucleares (PMN), ou granulócitos, e leucócitos mononucleares. Os leucócitos PMN são: neutrófilos, eosinófilos e basófilos, que são todos produzidos na medula óssea. Os leucócitos mononucleares são os linfócitos e monócitos. Linfócitos são produzidos na medula óssea (fonte primária), órgãos linfóides (timo, baço e linfonodos), e tecidos linfóides associados ao intestino (placas de Peyer, tonsilas). Monócitos, os maiores leucócitos, originam-se na medula óssea.

A leucocitose (aumento global do número de leucócitos), pode ser fisiológica como resultado de stress (discreta) e pode também ser patológica, como resultado de processos inflamatórios. A definição do tipo de patologia é dada pela contagem diferencial, quando se observa qual o tipo de célula é responsável pela leucocitose.

A leucopenia (diminuição do número global de leucócitos) geralmente é devido a destruição ou seqüestro dos neutrófilos na microcirculação. Observamos este quadro nas endotoxemias, septicemias, infecções virais e febre alta.

Neutrófilos: A população de neutrófilos pode ser dividida em quatro grupamentos: de proliferação, de maturação, marginal e circulante. O grupamento de proliferação é composto de mieloblastos, promielócitos e mielócitos, encontrados na medula óssea e capazes de fazer divisão celular. O grupamento de maturação consiste de metamielócitos, bastonetes e neutrófilos segmentados. Estas células não mais passam pelo processo de divisão celular, e compõem cerca de 80% dos granulócitos da medula óssea. O tempo normal exigido para a progressão desde mieloblasto até neutrófilo segmentado maturo, é de 4 a 9 dias, dependendo da espécie. Existe um compartimento funcional de armazenamento de neutrófilos na medula, para impedir depleção medular pela súbita imposição de proporção grandemente aumentada de uso periférico. O grupamento de armazenamento, limitado a neutrófilos segmentados e alguns bastonetes, varia em suas proporções e entre as espécies. O grupamento marginal é formado por neutrófilos que estão aderidos ao endotélio ao longo de toda a microvasculatura, especialmente nos pulmões, fígado e baço. Os neutrófilos na circulação compõem o

grupamento circulatório, e esta é a única parte da população total dos neutrófilos que é enumerada pela contagem de neutrófilos no sangue periférico.

O período de vida dos neutrófilos é de apenas uns poucos dias, constituindo de três fases: intramedular, intravascular e tecidual. A fase intramedular inclui os neutrófilos e precursores na medula óssea. Da medula óssea, os neutrófilos ingressam na corrente sangüínea e circulam, tendo uma meia-vida de 6 a 14 horas, dependendo da espécie; portanto, todo o grupamento sangüíneo de neutrófilos é substituído 2 a 2 e meia vezes por dia. Após a fase intravascular, os neutrófilos se movimentam aleatoriamente nos tecidos por diapedese através do endotélio vascular, não retornando ao sangue. Os neutrófilos migram para o interior dos tecidos dentro de 2 horas após a lesão, infecção, ou inflamação. Na ausência de tais lesões, os neutrófilos são destruídos pelos macrófagos da medula óssea, fígado e baço ou se perdem pelas secreções e excreções corporais dentro de 96 horas após terem deixado a medula.

A principal função dos neutrófilos é a fagocitose e destruição de material estranho, especialmente bactérias patogênicas. As etapas necessárias para que seja conseguida a morte bacteriana são: quimiotaxia, aderência, ingestão e digestão.

Eosinófilos: São produzidos na medula óssea, e seguem a mesma seqüência de maturação e cinética, que os neutrófilos, exceto que os eosinófilos se originam de célula tronco diferente, denominada eosinófilo-unidade formadora de colônia. Há grande reserva medular de eosinófilos, e sua meia-vida circulatória varia de 30 minutos a 10 horas, dependendo da espécie. Os eosinófilos deixam a circulação aleatoriamente, sendo encontrados em muitos tecidos do corpo, particularmente o tecido conjuntivo frouxo subepitelial do intestino, do subcutâneo, útero e trato respiratório. Uma vez que esteja no tecido, a meia-vida dos eosinófilos aumenta para 12 dias.

Embora todas as funções dos eosinófilos estejam ainda por serem definidas, estas células são extremamente importantes no controle das infecções parasitárias e na regulação das reações inflamatórias e alérgicas. Os eosinófilos podem fagocitar ampla variedade de substâncias, mas são menos eficientes que os neutrófilos. Os eosinófilos também possuem limitada capacidade bactericida, propiciando assim pouca resistência do hospedeiro à infecção bacteriana; contudo, os eosinófilos são importante mecanismo de imunidade protetora antiparasitária. Quando os eosinófilos entram em contato com parasita revestido de anticorpos e complemento, estas células liberam seu conteúdo

granular, que lesiona o parasita, terminando por destruí-lo. Os grânulos dos eosinófilos contém proteínas catiônicas e enzimas lisossômicas.

Basófilos: São produzidos na medula óssea por mitose dos promonócitos basofílicos, através dos mesmos estágios seqüenciais de maturação porque passam os neutrófilos; contudo, os precursores mais imaturos e a célula-tronco envolvida, responsável por sua produção, não foram claramente definidos. São os menos numerosos entre os leucócitos, são relativamente raros no sangue de eqüinos. Após terem sido liberados na corrente sangüínea, os basófilos apresentam meia-vida circulante de cerca de 6 horas. Então estas células penetram nos tecidos, onde sobrevivem por cerca de 10 a 12 dias.

Linfócitos: São produzidos na medula óssea, linfonodos, timo, baço e placas de Peyer. São classicamente divididos em dois grupos: linfócitos T, ou linfócitos derivados do timo, e linfócitos B, ou linfócitos derivados da medula óssea. Tanto a população de linfócitos T, quanto a de linfócitos B estão presentes no sangue periférico dos eqüinos e os linfócitos T constituem a maioria. O número de linfócitos T e B no sangue periférico, varia com a idade e saúde do indivíduo. Os linfócitos B são poucos durante a vida fetal, mas aumentam continuamente, para constituir cerca de 20% dos linfócitos circulantes na maior parte dos animais adultos. O período de vida dos linfócitos é de difícil mensuração, visto que tais células podem recircular e passar por mitoses. Não há informações para os animais domésticos, mas a maior parte dos linfócitos humanos tem longa vida, com média de existência de 4 anos.

O número de linfócitos no sangue periférico reflete equilíbrio entre as células que estão deixando a circulação, e as que nela estão ingressando; assim as alterações não necessariamente indicam linfopoesse alterada. Uma queda na linfopoesse geralmente causa linfopenia, mas o oposto não é necessariamente verdadeiro.

Monócitos: São produzidos na medula óssea a partir das mesmas células-tronco que os neutrófilos: os granulócitos-unidade formadora de colônias, macrófagos que se diferenciam em mieloblastos (precursores de neutrófilos), ou em monoblastos (precursores de monócitos). Monoblastos sofrem mitose, gerando promonócitos, e em seguida se dividem mais uma a duas vezes, produzindo monócitos. Uma vez liberados no sangue, os monócitos circulam por 1 a 3 dias, dependendo da espécie; em seguida

penetram nas cavidades e tecidos do corpo e se transformam em macrófagos. Os macrófagos teciduais são muito mais numerosos que os monócitos sangüíneos, sobrevivendo nos tecidos de semanas a anos. Uma vez nos tecidos, estes macrófagos são descritos como “fixos” ou “livres”. Macrófagos livres são encontrados dentro das cavidades peritoneal e pleural, articulações, espaços alveolares e em áreas de inflamação. Os macrófagos fixos são as células de Küpffer do fígado, osteoclastos, células microgliais e macrófagos encontrados no baço, medula óssea e linfonodos.

Os monócitos sangüíneos e macrófagos teciduais constituem o sistema fagocitário mononuclear, conhecido como sistema reticulo-endotelial. As principais funções dos monócitos ocorrem nos tecidos, depois que se transformam em macrófagos. As funções dos macrófagos teciduais são uma sustentada atividade fagocitária e ação microbicida contra algumas bactérias, agentes virais, fungos e protozoários; regulação da resposta imune, tanto em membros aferentes, quanto em membros eferentes; remoção fagocitária de restos teciduais, células exauridas, e outros corpos estranhos; defesa tumoral; regulação da hematopoiese; reparo e remodelagem teciduais; e secreção de monocinas, enzimas lisossômicas, e outras substâncias como os fatores de coagulação, com importância biológica de amplo alcance.

b) Bioquímica: Para a realização de exames bioquímicos o laboratório deve informar a técnica que utiliza e qual tubo deve ser utilizado para o exame solicitado. Saber se o ideal é soro ou plasma e no caso de plasma qual o anticoagulante de preferência. Procurar saber também quais as condições para armazenamento da amostra e que tempo pode permanecer armazenada.

Creatina quinase: A avaliação de performance em eqüinos é feita através da dosagem da creatina fosfoquinase (CPK) ou creatina quinase (CK). É uma enzima músculo esquelética específica de grande importância na avaliação da função muscular, podendo chegar a altos índices quando ocorrem distrofias musculares. No entanto, mesmo com um mínimo de lesão celular (como um cavalo após uma corrida), já detectamos alterações nos seus índices o que a torna um indicativo importante de adaptação ao exercício. Isto ocorre porque a CK é uma enzima citoplasmática e esta sujeita a uma rápida liberação na circulação como resultado de uma pequena lesão. Também, devido à curta meia vida, seus níveis retornam ao normal rapidamente, sua

atividade é reduzida em 50%, após 6 horas *in vitro*. As enzimas encontradas dentro da mitocôndria, necessitam que uma lesão maior ocorra para que elas sejam liberadas.

Três isoenzimas foram descritas: a isoenzima MM é encontrada em músculos esqueléticos e cardíaco; a isoenzima MB também presente nos músculos esqueléticos e cardíaco mas em menores concentrações; e a isoenzima BB que é encontrada no tecido cerebral. A principal atividade da CK está no tecido muscular, tendo como função fosforilar de forma reversível a creatina as custas de ATP.

Dosagens regulares de CK servem para avaliar o treinamento de cavalos atletas.

Lactato: A dosagem de ácido láctico no cavalo tem grande importância e há duas fontes principais: formação na microflora intestinal e síntese por metabolismo anaeróbico o qual é o motivo mais freqüente do aumento da lactemia e reflete a perfusão periférica dos tecidos, especialmente da musculatura esquelética.

O metabolismo anaeróbico ocorre quando as células são privadas do oxigênio. As três causas principais na espécie eqüina são: o exercício, a laminite e as crises abdominais, mas é importante lembrar que qualquer doença que implique em hipóxia tecidual, levará ao aumento do lactato plasmático.

Com relação ao exercício, a elevação do lactato ocorre imediatamente após o trabalho anaeróbico ter se iniciado e é inversamente proporcional à tolerância ao exercício. Os níveis circulantes sobem rapidamente até 1,5 - 2,5 mmol/ml a partir do momento que o animal começa a utilizar o metabolismo anaeróbico e, após o exercício ter cessado, os níveis também declinam rapidamente. Por isto, o treinamento acompanhado pela dosagem de lactato só tem valor se a coleta for feita imediatamente após o exercício.

Fatores responsáveis por queda de performance

Muitos são os fatores que causam queda de performance, mas os mais importantes e de incidência maior são: o stress, sempre que o animal enfrentar uma situação de stress (transporte, exercício exagerado, frio, calor, alimentação inadequada, sede)> Isto faz com que seu organismo diminua sua resistência podendo ocorrer doenças causadas por microorganismos oportunistas. A Babésia sp. é uma das maiores causas de queda de performance, é um hemocitozoário oportunista, geralmente acompanha situações em que o animal sofreu algum tipo de stress. Outra causa muito comum é a hemorragia pulmonar causada por esforço respiratório. Geralmente é seqüela

de uma infecção respiratória recente. Também lesões músculo esqueléticas; leptospirose, doenças infecciosas, treinamento inadequado.

4 - Nutrição

O processo da vida, segundo Hummel, é constituído de dois componentes básicos: um plástico, ligado às modificações, à origem e à preservação da forma e outro funcional, expresso pelo fluxo e pela renovação constante dos substratos do metabolismo celular. Assim, a sobrevivência está diretamente ligada ao suprimento contínuo de substratos alimentares necessários para cobrir a totalidade das demandas energéticas do animal.

Há, então, direta correlação entre energia e a capacidade de produzir trabalho. No caso dos animais, a fonte disponível é a energia química potencial de compostos orgânicos como carboidratos, gorduras e proteínas que lhes são proporcionados na forma de alimentos. Uma vez degradados a CO_2 e H_2O , essas substâncias liberam no sistema celular energia química e, então, utilizada para produzir trabalho.

Por outro lado, o organismo animal sempre opera a uma temperatura constante produzindo calor para manter a temperatura do corpo. Assim para a manutenção de seu balanço energético é essencial que promova a contínua ingestão de alimentos.

Os alimentos são classificados em orgânicos e inorgânicos. Os orgânicos podem ser plásticos (proteínas), energéticos (lipídeos e carboidratos) e reguladores (vitaminas). Os inorgânicos compreendem a água, os sais minerais e o oxigênio. Os minerais da dieta possuem ampla função no organismo, tais como na estrutura dos dentes e ossos, em funções metabólicas como cofatores enzimáticos, ou desempenhando papel no equilíbrio osmótico e no equilíbrio iônico e em outras funções físico-químicas como na regulação do pH.

Após esta exposição, podemos concluir que para elaborar uma dieta balanceada para um animal de performance, temos que levar em consideração a fase de desenvolvimento deste animal; o clima da região, o tipo de treinamento, necessidades individuais de cada animal, acompanhamento do peso e condição física deste animal. Uma suplementação com vitaminas, minerais e principalmente íons (sódio, potássio e cloretos) se faz necessária pois estes animais perdem muitos íons no suor.

O cavalo por não estar no seu habitat natural e sim em uma cocheira, sofre com a pouca quantidade de fibra que lhe é oferecida. Sempre que possível, fazer suplementação com pasto verde.

Avaliação de animais doentes

1) Hematologia

O hemograma completo serve como auxiliar de diagnóstico nas doenças infecciosas, processos anêmicos, inflamatórios e virais; é um recurso que o clínico pode utilizar em casos de doenças graves. O acompanhamento da doença através do hemograma completo ajuda principalmente quanto ao prognóstico.

2) Bioquímica

Perfil Muscular: Os equinos pelo tipo de trabalho que realizam são muito suscetíveis à problemas musculares. Em caso de lesão muscular é solicitado dosagem de CK (creatina quinase) e AST (aspartato aminotransferase)

AST (GOT) é uma enzima que catalisa a transaminação reversível de aspartato e 2-cetoglutarato em oxalacetato e glutamato. Tem como co-fator o piridoxal-fosfato. Quando existem injúrias, por exemplo, infecções ou toxinas que resultam em lesão da membrana celular e perda dos componentes citoplasmáticos e mitocondriais para o plasma, observamos aumento nos níveis desta enzima. Ela é um excelente método para medir necrose tissular mas não deve ser usada isoladamente. Aumento de AST são observados em hepatite infecciosa e tóxica, hemólise, deficiência de selênio e vitamina E e no exercício físico intenso. Se quisermos saber se o aumento da AST é devido a aumento na permeabilidade hepatocelular ou devido a lesão muscular, deve-se associar a dosagem de CK que é músculo específica, assim, elevação simultânea de CK e AST, indicam lesão muscular, enquanto que os níveis elevados na presença de CK normal indicam provável distúrbio hepatocelular.

A meia vida da AST é de 18 horas e sua atividade persiste por 7 a 10 dias. Os valores de referência para equinos de esporte são: AST - 200 a 500 U/l.

CK é amplamente usada para diagnosticar transtornos musculares. A enzima é citosólica ou associada às estruturas das miofibrilas. Requer Mg^{2+} como cofator e portanto sua atividade pode estar inibida na presença de compostos quelantes. A CK aparece elevada antes da AST e também desaparece primeiro. Assim, o padrão enzimático dessas enzimas pode indicar o estágio do problema. CK aumentada com baixa AST indica lesão recente, níveis persistentemente altos das duas indicam lesão

continuada, enquanto que níveis baixos de CK e altos de AST indicam processo de recuperação.

Os valores de referência para eqüinos de esporte estão entre 90 a 500 U/l.

b) Perfil Renal

A uréia é a principal forma de excreção do nitrogênio proveniente do catabolismo protéico. É formada no fígado a partir da amônia que é muito tóxica e é por esta razão que cavalos com falência hepática podem morrer com intoxicação por amônia e ter baixo nível de uréia. O nível de uréia no sangue é denominado uremia e designamos azotemia qualquer aumento significativo de compostos nitrogenados não protéicos no sangue, principalmente uréia, creatinina e amônia.

A dosagem de uréia no sangue avalia grosseiramente o funcionamento renal pois além dos distúrbios primários, ela também pode estar aumentada na azotemia pré-renal, quando a oferta de sangue ao rim é insuficiente, por exemplo, nos casos de choque e desidratação, levando à diminuição da filtração glomerular. Pode haver ainda azotemia pós-renal cujo exemplo mais comum é a ruptura da bexiga urinária em potros.

Observamos aumento da uremia também quando há super produção de resíduos nitrogenados como nas dietas com excesso de proteína, quando aumenta o catabolismo (febre, toxemia, tireoderivados) ou quando há proliferação da população bacteriana (diarréias bacterianas). Os valores de referência para a uréia são entre 8 e 27 mg/dl.

A creatinina é um produto final do metabolismo muscular. Ela é eliminada do plasma por filtração glomerular e não é reabsorvida nos túbulos em grau significativo. Por isto, a sua depuração, é mais elevada que a da uréia e quando seu nível ultrapassa o valor normal ela é eliminada ativamente.

A dieta não altera os valores da creatinina no soro, mas nos casos de problemas musculares graves (por exemplo mioglobínúria, rabdomiólise), podemos encontrar uma elevação transitória apesar do funcionamento renal normal.

É um indicativo da função renal bem melhor do que a uréia, no entanto, deve-se lembrar que a reserva renal é muito grande, ou seja, uma creatinina normal indica que pelo menos 25% da filtração glomerular está ocorrendo, mas não exclui a possibilidade de lesão renal. Os valores de referência para a creatinina são entre 0,6 e 1,8 mg/dl.

c) Perfil hepático

A fosfatase alcalina encontra-se em diversos tecidos, tais como fígado, osso, mucosa intestinal, placenta e rins. A enzima no soro provém principalmente dos ossos e do fígado mas é importante lembrar que o nível de fosfatase alcalina estará aumentado em éguas prenhes e em potros com menos de um ano de idade (devido a intensa reabsorção óssea) sem estar associada a nenhum distúrbio de saúde. Nesta caso, os níveis podem chegar a ser 2 a 3 vezes maior do que os considerados como referência. Os níveis estarão aumentados nas crises gastrointestinais por causa do comprometimento da mucosa e também nos distúrbios hepáticos, especialmente se os dutos biliares estiverem envolvidos, por superprodução de fosfatase alcalina de origem hepática. Os valores de referência da fosfatase alcalina são entre 109 e 315 U/l.

A bilirrubina é o componente endógeno mais usado para a avaliação hepática. Ela é um produto da degradação da hemoglobina presente nas hemácias após elas terem sido destruídas pelo sistema retículoendotelial. A bilirrubina circulante, é, então, extraída do plasma pelos hepatócitos e conjugada com o ácido glicurônico antes de ser excretada na bile. Antes de sofrer este processo de conjugação, ela é denominada bilirrubina livre ou indireta. Após sofrer este processo, ela é chamada então de bilirrubina conjugada, ou direta.

Os dois tipos de bilirrubina estão presentes na circulação e a distinção entre elas é importante para diferenciar as hiperbilirrubinemias conjugadas, as quais estão associadas principalmente a problemas hepáticos, das hiperbilirrubinemias livres, resultantes geralmente, da superprodução de bilirrubina (resultante de hemólise por exemplo) ou ainda de deficiência no suprimento de sangue ao fígado (insuficiências cardíacas) ou ainda de deficiência no mecanismo de conjugação (jejum).

A espécie equina tem a característica de apresentar uma hiperbilirrubinemia fisiológica decorrente do jejum. Após um jejum de três dias, o nível de bilirrubina livre pode chegar a ser 3 ou 4 vezes maior do que o nível basal e voltar ao normal 24 horas após a alimentação. É por isto, que no jejum o cavalo pode ficar icterico. A icterícia, especialmente visível na esclerótica do cavalo, é o sinal físico mais evidente da hiperbilirrubinemia.

Aproximadamente 10% da bilirrubina total circulante é do tipo conjugada (0,6 a 1,0 mg/dl), enquanto que o resto corresponde a bilirrubina livre (1,5 a 3,2 mg/dl). Aceita-se como normal até 35% da bilirrubina total ser do tipo conjugada.

As hepatites, em geral, causam hiperbilirrubinemia conjugada e livre também, mas o aumento da conjugada é mais evidente. As principais causas da hiperbilirrubinemia no meio equino são a babesiose (bilirrubina livre) e a intoxicação medicamentosa (bilirrubina conjugada).

ALT (GPT) é uma enzima que catalisa a transaminação reversível de alanina e 2-cetoglutarato em piruvato e glutamato. Tem como co-fator o piridoxal-fosfato. É encontrada em grande concentração no fígado e, em menor grau no rim e nos músculos, tendo localização citoplasmática. A ALT é um bom indicador de hepatopatias agudas, principalmente em doenças hepatocelulares, necrose hepática, obstrução biliar, intoxicações e infecções parasitárias. Seu uso é de pouco valor diagnóstico devido aos baixos teores da enzima nos tecidos de equinos. Em processos crônicos seu valor está diminuído. Também pode estar aumentada em casos severos de lesão muscular. Os valores de referência para ALT são de 3 a 25 U/l.

Referências bibliográficas

- GONZALEZ F.H.D., SILVA S.C., Perfil Bioquímico Sangüíneo. In: **Introdução à Bioquímica Clínica Veterinária**. Porto Alegre:Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2003.
- CARLSON G.P. Testes de Química Clínica. In: **Tratado de Medicina Interna de Grandes Animais** Ed. Manuele Ltda., Bradford P.S., DVM, Diplomate ACVIM. 1993.
- MORRIS D.D. Coleta e apresentação das amostras para citologia e hematologia, In: **Tratado de Medicina Interna de Grandes Animais**, Ed. Manuele Ltda., Bradford P.S., DVM, Diplomate ACVIM. 1993.
- MORRIS D.D. Alterações no eritron. In: **Tratado de Medicina Interna de Grandes Animais**, Ed. Manuele Ltda., Bradford P.S., DVM, Diplomate ACVIM. 1993.
- MORRIS D.D., LARGE S.M., Alterações no leucograma. In: **Tratado de Medicina Interna de Grandes Animais**, Ed. Manuele Ltda., Bradford P.S., DVM, Diplomate ACVIM. 1993.
- SCHALM'S, The Horse: normal hematology with coments on response to desease, In: **Veterinary Hematology**. Ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 1986.
- BACILA M. Nutrição animal e balanço energético, In: **Bioquímica Veterinária**, Ed. Robe, 2003.
- LOPES, S.T.A. Eritrograma. In: **Patologia Clínica Veterinária**, Santa Maria: Editora Universidade Federal de Santa Maria. 1996.