



Biomarcadores fisiológicos de ovelhas (*Ovis aries*) mestiças durante o periparto *Physiological biomarkers of crossbred sheep (Ovis aries) during peripartum*

P.C. Marino, C.B. Silva, S.M. Gonzalez, A.P. Reway, A.L. Almeida, T.P. Bianchini, T.M. Fernandes, R.G. Gomes, J.A.N. Lisboa, M.M. Seneda¹

Departamento de Clínicas Veterinárias, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, PR, Brasil.

¹Correspondência: mseneda@uel.com

Resumo

O objetivo do presente estudo foi verificar as variações nos constituintes do leucograma e do eritrograma no periparto de fêmeas ovinas da região norte do Paraná. Ovelhas mestiças (n = 9) foram submetidas à venopunção a cada 24 h nos cinco dias antecedentes ao parto, no momento do parto, 12 h, um, dois, três, quatro, oito e 16 dias pós-parto. As amostras foram coletadas em tubos contendo EDTA, e foram feitas as seguintes análises: volume globular (VG), hemoglobina (HB), hemácias (HE), volume corpuscular médio (VCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), Red Cell Distribution Width (RDW) e contagem total e diferencial dos leucócitos. Os dados foram avaliados por análise estatística descritiva e evidenciaram que os períodos gestacional e puerperal exercem influência sobre o perfil leucocitário de ovelhas com predomínio de neutrófilos próximo do parto, no momento do parto e 12 h pós-parto. O eritrograma não demonstrou grandes variações no transcorrer do experimento.

Palavras-chave: eritrócitos, gestação, leucócitos, ovinos, parto.

Abstract

The aim of this study was to determine the variations in the constituents of the erythrocyte and leukocyte count in the peripartum female sheep of northern Paraná. Crossbred ewes (n = 9) underwent venipuncture every 24 h in the five days prior to birth, in the moment of birth, and 12 h, 1, 2, 3, 4, 8 and 16 days postpartum. The samples were collected in EDTA tubes and the following analyzes were performed: Globular Volume (VG), Hemoglobin (Hb), Red Blood Cells (HE), Mean Corpuscular Volume (VCM), Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (CHCM), Mean Corpuscular Hemoglobin (HCM), Red Cell Distribution Width (RDW), and total count and differential leukocyte. The data were analyzed with descriptive statistical analysis and showed that pregnancy and puerperal influence on leukocyte profile of sheep with a predominance of neutrophil next of birth, in the moment of birth and 12 h postpartum. The hematological values showed no significant variations during the experiment and 12 h postpartum. The hematological values showed no significant variations during the experiment.

Keywords: birth, erythrocytes, leucocytes, pregnancy, sheep.

Introdução

A hematologia veterinária é utilizada no auxílio diagnóstico, prognóstico e no acompanhamento de diversas enfermidades, entre os diferentes eventos fisiológicos dos animais domésticos (Viana et al., 2003). Assim, é importante conhecer os valores de referência dos exames leucocitários e eritrocitários de ovelhas no periparto, evento esse fisiológico.

Durante o período periparturiente em algumas espécies, como em seres humanos (Burwell e Metcalfe, 1958), caprinos (Fonteque et al., 2010), ovinos (Bezerra et al., 2013) e bovinos (Saut e Birgel Júnior, 2006), foram descritas alterações no perfil hematológico como resposta aos processos fisiológicos. Cabe ressaltar que a idade e a estação do ano são fatores que também poderão alterar os parâmetros sanguíneos dos animais (Baumgarther e Pernthaner, 1994).

Na espécie ovina, as informações sobre a influência dos eventos fisiológicos e reprodutivos no leucograma e no eritrograma de animais saudáveis ainda são escassas. Assim, o objetivo do presente estudo foi verificar as variações nos constituintes do leucograma e do eritrograma no período periparturiente de fêmeas ovinas mestiças.

Material e Métodos

O estudo foi realizado na Universidade Estadual de Londrina, localizada a latitude 23° 23' S, longitude 51° 11' W e altitude de 566 metros, durante o inverno. Foram selecionadas nove ovelhas, com média de seis anos de idade, clinicamente saudáveis, criadas sob manejo extensivo e apresentando boa condição corpórea (score corporal 3), com peso médio de 40 kg, submetidas a diagnóstico de gestação por meio de ultrassonografia via transretal. Durante todo o período experimental, esses animais permaneceram em baias individuais com

alimentação à base de feno de *coast-cross*, silagem de sorgo, água e sal mineral *ad libitum*. Para que não houvesse influência da endoparasitose no quadro hemático, os animais foram submetidos à contagem de ovos por grama de fezes e método Famacha® semanalmente.

As amostras de sangue (5 mL) foram coletadas por punção da veia jugular externa, utilizando-se agulhas de Vacuntainer® e tubos contendo EDTA. Essas amostras foram coletadas nos seguintes momentos: a cada 24 h nos cinco dias antecedentes ao parto, no momento do parto, 12 h, um, dois, três, quatro, oito e 16 dias pós-parto. Totalizaram-se 13 amostras por animal, metodologia essa proposta por Birgel Júnior et al. (2005) em caprinos. Foram avaliados volume globular (VG), hemoglobina (HB), hemácias (HE), volume corpuscular médio (VCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), Red Cell Distribution Width (RDW) e contagem total de leucócitos pelo método de impedância elétrica, por meio do aparelho BC2800 VET da empresa Mindray®.

O diferencial dos leucócitos foi realizado por microscopia óptica com a contagem de 100 células no esfregaço sanguíneo corado com corante rápido para hematologia, da marca Panótico. Dos valores obtidos nos períodos descritos foram realizadas médias e desvio-padrão, ilustrando os valores mínimo e máximo em cada um dos períodos. Esses dados foram analisados por meio do programa Microsoft Office Excel®.

Resultados e Discussão

Os resultados apresentados demonstraram influência da gestação e do puerpério sobre o leucograma das ovelhas, com quadro predominantemente neutrofílico quando próximo do parto, no momento do parto e 12 h pós-parto.

A análise dos resultados evidenciou que o total de leucócitos nos animais avaliados foi menor aos cinco e dois dias antecedentes ao parto ($7007,77 \pm 2764,39$ e $7066,66 \pm 3446,27$ leucócitos/mm³, respectivamente), quando comparados às 24 h antecedentes ao parto ($8124,44 \pm 3245,50$ leucócitos/mm³), ao momento do parto ($9830,00 \pm 4005,72$ leucócitos/mm³) e às 12 h após o parto ($9962,22 \pm 4016,47$ leucócitos/mm³). Notou-se ainda que às 24 h pós-parto houve diminuição dos leucócitos totais ($7710,00 \pm 4876,94$ leucócitos/mm³), enquanto no quarto, oitavo e 16º dias pós-parto se observaram variações nos números de leucócitos ($7928,33 \pm 3391,55$, $9323,75 \pm 6225,72$ e $6914,00 \pm 1666,86$ leucócitos/mm³, respectivamente; Fig. 1).

Resultados similares foram apresentados por Birgel Júnior et al. (2005) na espécie caprina, os quais obtiveram variações nos valores dos leucócitos das cabras gestantes do 32º ao terceiro dias antecedentes ao parto, oscilando entre 9370 ± 1840 e 9595 ± 2089 leucócitos/mm³, respectivamente. Nos últimos dias de gestação das cabras, também foi observado um aumento gradual do número total de leucócitos, ou seja, dois dias antes do parto: 10350 ± 2777 leucócitos/mm³, 24 h antes do parto: 10625 ± 2427 leucócitos/mm³, 12 h antes do parto: 12290 ± 2713 leucócitos/mm³ e no momento do parto: 12275 ± 2531 leucócitos/mm³. Nas amostras de sangue coletadas entre 72 e 12 h antes do parto, observou-se aumento dos valores de forma significativa de 9560 ± 1978 para 12290 ± 2713 leucócitos/mm³, respectivamente. Esses valores foram mantidos até 24 h após o parto, porém, a partir do segundo dia pós-parto, houve diminuição no total de leucócitos (10350 ± 1895 leucócitos/mm³).

Em fêmeas bovinas da raça Holandesa também foi demonstrada a influência dos fatores relacionados à parição sobre o perfil leucocitário, porém Saut e Birgel Júnior (2006) avaliaram o número total dos leucócitos somente no período pós-parto. Nas primeiras 24 h após o parto, a média do número de leucócitos foi de 18977 ± 5644 leucócitos/mm³; em seguida, houve redução gradativa, que atingiu valores iguais a 12247 ± 5058 leucócitos/mm³ em amostras coletadas entre o sexto e o oitavo dia pós-parto. A partir desse momento, houve variações no número total de leucócitos, que oscilaram entre 10764 ± 2848 leucócitos/mm³ e 12106 ± 4892 leucócitos/mm³, corroborando os resultados obtidos no presente trabalho.

Com relação aos valores diferenciais absolutos dos leucócitos, no presente trabalho observou-se quadro predominantemente neutrofílico um dia antes do parto, no momento do parto, 12 e 24 h após o parto. A partir do segundo dia pós-parto, os valores foram sofrendo ligeiras variações (Fig. 1). O predomínio de neutrófilos também foi observado em ovelhas gestantes e puerperais por Bezerra et al. (2013).

Brito et al. (2006) também observaram que o número total de leucócitos apresentou aumento com o avançar da gestação de ovelhas, sendo 6636 ± 1620 leucócitos/mm³ nos primeiros 60 dias de gestação e 9314 ± 3240 leucócitos/mm³ aos 120 dias de gestação, também com o quadro predominantemente neutrofílico.

Alterações semelhantes também foram encontradas em vacas Holandesas por Saut e Birgel Júnior (2006). Os valores obtidos 24 h após o parto (8453 ± 2956 neutrófilos/mm³) foram diminuindo gradativamente nos primeiros dias pós-parto, resultando em 4602 ± 2761 neutrófilos/mm³ nas amostras coletadas a partir do segundo e do quarto dia. Segundo Longo (1983), a ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, pelo estresse, gera uma cascata hormonal que culmina com o aumento nas concentrações de cortisol plasmático. Em bovinos, as alterações no leucograma, por exemplo, durante o parto, são típicas de uma resposta leucocitária a um quadro de estresse (Esievo e Moore, 1979), podendo essa explicação também ser plausível aos dados encontrados no presente trabalho.

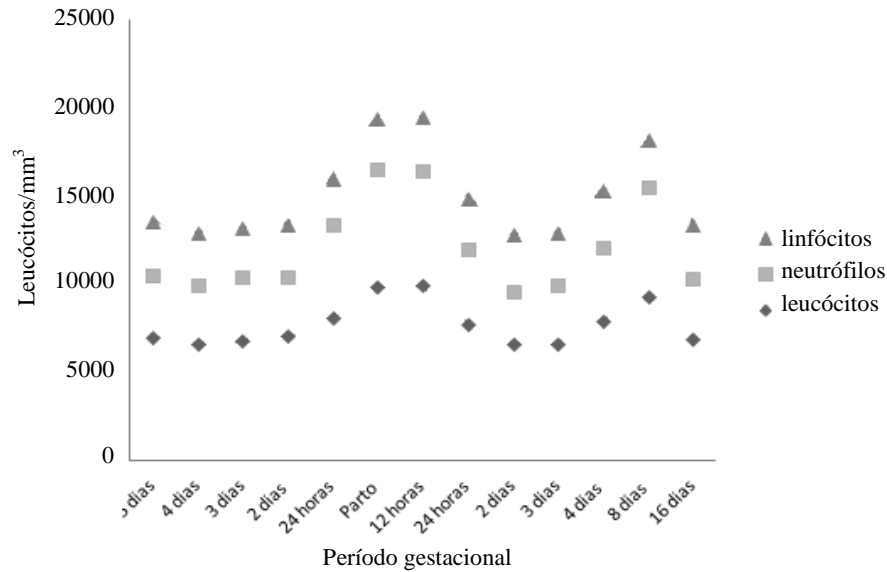


Figura 1. Influência do periparto sobre o leucograma de ovelhas (*Ovis aries*) mestiças.

Um estudo desenvolvido com cabras da raça Saanen também observou que o leucograma sofreu influência da gestação, porém houve uma diminuição gradual do número de leucócitos conforme o avançar da gestação. Os autores acreditam que essas variações ocorreram devido ao comportamento observado para o número absoluto de linfócitos, que foi diminuindo com a evolução da gestação, havendo uma prevalência no número de neutrófilos no quadro leucocitário na fase final de gestação e no puerpério, fato que explica o aumento do número de neutrófilos dentro dos valores de referência (Viana et al., 2003).

As diferenças apresentadas no eritrograma foram discretas e sem significância clínica, corroborando os resultados apresentados por Brito et al. (2006), Bezerra et al. (2013) na espécie ovina; Birgel Júnior et al. (2006) na espécie caprina e Saut e Birgel Júnior (2012).

No eritrograma, observou-se que as hemácias, tanto nos primeiros cinco dias antecedentes ao parto como no momento do parto e no oitavo dia após o parto, não apresentaram alterações discrepantes (Fig. 2). Chalhoub et al. (2000) avaliaram os perfis dos constituintes do sangue em ovelhas no momento da cesariana e no momento do parto e notaram que as ovelhas, desde o dia do parto até o sétimo dia após o parto, também não demonstraram grandes alterações no número de hemácias com o passar dos dias, resultando, respectivamente, em $9,56 \times 10^6/\text{mm}^3$ e $10,05 \times 10^6/\text{mm}^3$, o que corrobora os dados apresentados no presente estudo. Porém, quando compararam o parto normal com a cesariana, notaram que as fêmeas submetidas à cesariana sofrem menos alterações hematológicas do que as fêmeas que tiveram parto normal ($9,56 \times 10^6/\text{mm}^3$ e $8,38 \times 10^6/\text{mm}^3$, respectivamente). Cabe ressaltar que os valores encontrados tanto no parto como na cesariana foram bem próximos aos encontrados no presente trabalho.

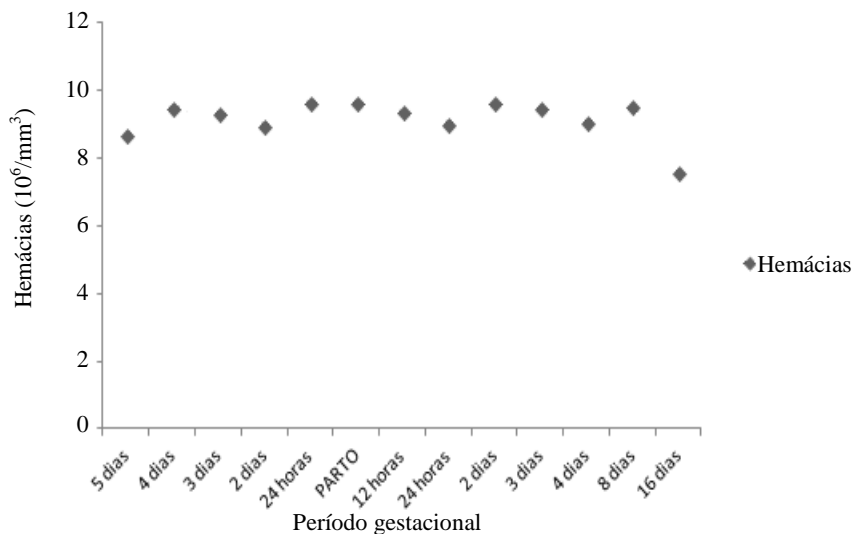


Figura 2. Valores séricos das hemácias ($10^6/\text{mm}^3$) nos diferentes períodos gestacionais, cinco dias antecedentes ao parto até 16 dias após o parto.

Os componentes do hemograma avaliados por Brito et al. (2006) também apresentaram seus valores dentro do intervalo de referência para a espécie ovina. Assim, não foi observada diferença nos constituintes hematológicos entre ovelhas vazias e prenhes, porém o hematócrito diminuiu com o avançar da gestação. Viana et al. (2003) descreveram que, com o avançar da gestação, o número total de hemácias das cabras foi decrescendo gradativamente, chegando a $12,97 \pm 2,86 \times 10^6/\text{mm}^3$ no momento do parto. E as fêmeas não prenhes, fêmeas em fase inicial de gestação e fêmeas em fase média da gestação, apresentaram, respectivamente, $15,15 \pm 2,34 \times 10^6/\text{mm}^3$, $15,18 \pm 2,44 \times 10^6/\text{mm}^3$ e $15,62 \pm 2,37 \times 10^6/\text{mm}^3$ de hemácias.

A hemoglobina também não demonstrou resultados diferentes (Fig. 3), ou seja, $7,37 \pm 1,07$ g/dL, em média, nos últimos cinco dias antecedentes ao parto e $7,53 \pm 0,95$ g/dL no momento do parto, enquanto Viana et al. (2003) mostraram que a Hb na fase média de gestação em cabras ($11,16 \pm 2,02$ g/dL) foi maior do que os valores encontrados na fase inicial ($9,99 \pm 2,02$ g/dL) e final de gestação ($9,73 \pm 2,14$ g/dL). Já Chalhoub et al. (2000) evidenciaram que ovelhas gestantes também não apresentaram alterações significativas da Hb no dia do parto até o sétimo dia após o parto ($12,00$ g/dL e $12,70$ g/dL, respectivamente). Saut e Birgel Júnior (2012) avaliaram o perfil hematológico de vacas Holandesas no pós-parto e também não obtiveram alterações no eritrograma, que permaneceu durante todo o puerpério dentro dos valores de referência da espécie. Ferreira et al. (2009) também não obtiveram alterações significativas durante a avaliação do hemograma em vacas Girolando.

A gestação e o puerpério não influenciaram no resultado do hematócrito, o qual apresentou mínima oscilação dos valores mínimos ($21,65 \pm 2,63\%$) e dos valores máximos ($24,32 \pm 3,53\%$), apesar de esses valores se mostrarem abaixo dos valores considerados de referência por Pugh (2005). Esses resultados corroboram os apresentados por Viana et al. (2003) em cabras, cujos valores de VG foram: valores mínimos ($26,80 \pm 5,20\%$) e máximos ($29,20 \pm 3,70\%$). Em ovelhas, Chalhoub et al. (2000) mostraram que, nas 24 horas após o parto até o sétimo dia após o parto, o VG também não demonstrou alterações significativas ($36,0\%$ e $37,0\%$, respectivamente), porém esses valores foram superiores aos evidenciados no presente experimento.

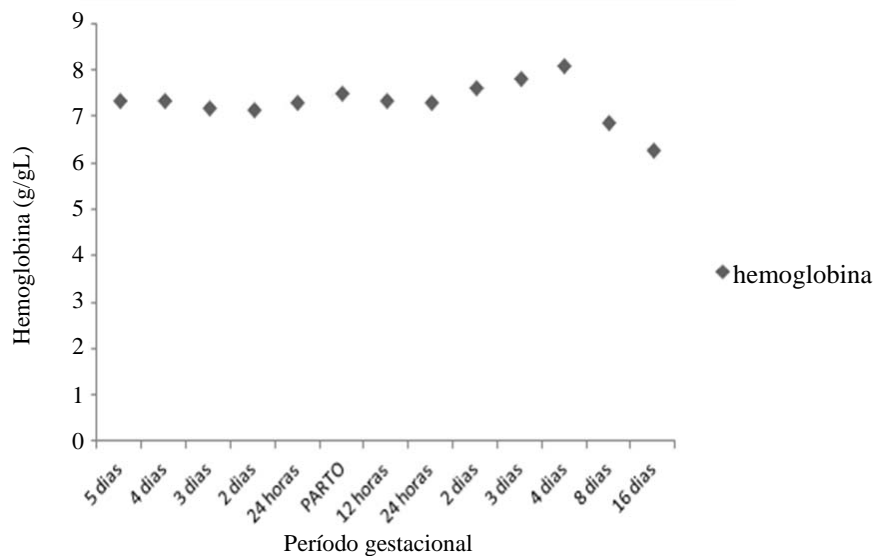


Figura 3. Valores séricos das hemoglobina (g/gL) nos diferentes períodos gestacionais, cinco dias antecedentes ao parto até 16 dias após o parto.

Brito et al. (2006) relatam que não houve diferença nos constituintes hematológicos entre ovelhas gestantes e no período puerperal, porém evidenciou-se diminuição no hematócrito no decorrer da gestação principalmente quando próximo do parto. Devido à maior exigência metabólica nesses períodos, os metabólitos sanguíneos podem manifestar alterações. Pere et al. (1996) sugerem que há possibilidade de ocorrer uma hemodiluição no final da gestação, a qual reduz a viscosidade sanguínea e aumenta o fluxo placentário, para melhor distribuição de nutrientes e oxigênio para o feto.

O VCM e a HCM também não sofreram grandes alterações com o avançar da gestação e no momento do parto (Fig. 4), nos quais apresentaram valores médios de VCM iguais a $25,01 \pm 2,15$ m^3 e HCM $8,54 \pm 1,33$ m^3 nos últimos cinco dias antecedentes ao parto e valores médios de VCM iguais a $24,83 \pm 1,77$ m^3 e HCM $7,82 \pm 1,50$ m^3 no momento do parto.

O mesmo resultado ocorreu com os valores de CHCM e RDW (Fig. 4 e 5). O valor mínimo de CHCM foi $29,4 \pm 8,49$ m^3 , e $34,26 \pm 3,21$ m^3 foi o valor máximo, elucidando ligeiras oscilações nos diferentes momentos analisados. Resultados semelhantes foram obtidos para o RDW, o qual demonstrou ligeiras oscilações nos resultados independentemente da fase gestacional ($15,76 \pm 1,11\%$ valor mínimo e $17,88 \pm 4,94\%$ valor máximo).

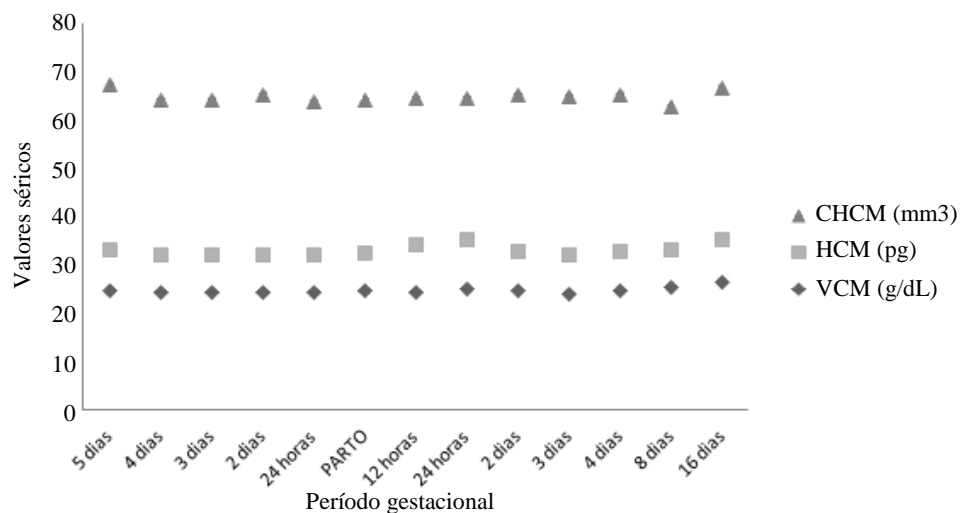


Figura 4. Valores séricos do CHCM, HCM e VCM nos diferentes períodos gestacionais, cinco dias antecedentes ao parto até 16 dias após o parto.

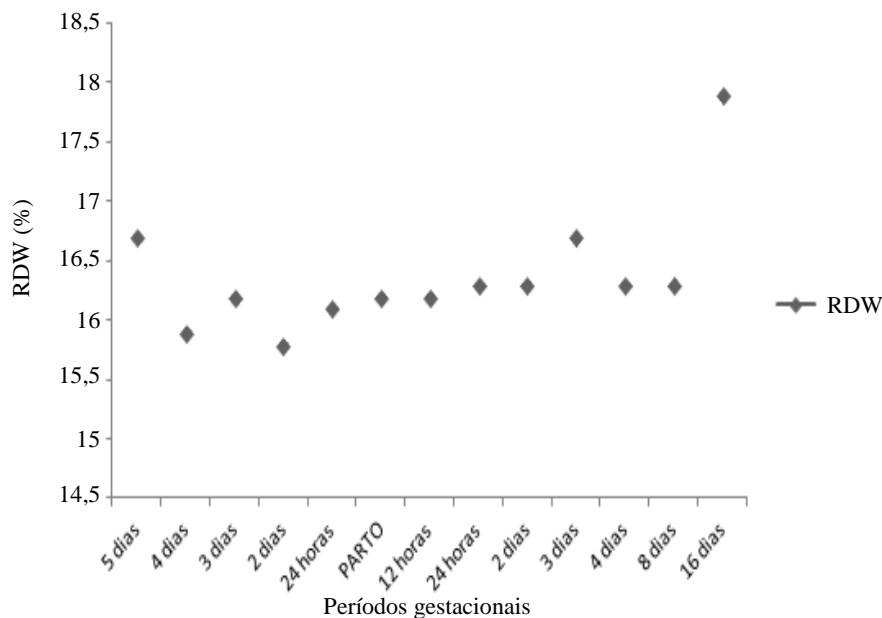


Figura 5. Valores de RDW nos diferentes períodos gestacionais, cinco dias antecedentes ao parto até 16 dias após o parto.

Conclusão

Nas condições propostas do presente experimento, pode-se concluir que houve influência dos períodos gestacional e puerperal sobre o perfil leucocitário das fêmeas ovinas com predomínio de neutrófilos nas proximidades do parto e no momento do parto, embora tais variações tenham se mantido dentro dos limites fisiológicos para a espécie. Porém, o mesmo resultado não foi observado quando se analisaram os constituintes do eritrograma, o qual não apresentou alterações significativas.

Referências

- Baumgartner W, Pernthaler A.** Influence of age, season, and pregnancy upon blood parameters in Austrian Karakul sheep. *Small Rumin Res*, v.13, p.147-151, 1994.
- Bezerra LR, Torreão JNC, Marques CAT, Machado LP, Araújo MJ, Veiga AMS.** Influência da suplementação concentrada e da categoria animal no hemograma de ovinos da raça Morada Nova. *Arq Bras Med Vet Zootec*, v.65, p.1738-1744, 2013.
- Birgel Junior EH, Viana RB, Ayres MCC, Benesi FJ, Gomes V, Birgel EH.** Influência da parição e do puerpério no leucograma de caprinos (*Capra hircus*) da raça Saanen criados no estado de São Paulo. *Braz J Vet*



Res Anim Sci, v.42, p.347-356, 2005.

Brito MA, González FD, Campos LARR, Barbosa LLPR, Bergmann G. Composição do sangue e do leite em ovinos leiteiros do sul do Brasil: variações na gestação e na lactação. Ciênc Rural, v.36, p.942-948, 2006.

Burwell CS, Metcalfe J. Heart diseases and pregnancy: physiology and management. Boston: Little Brown, 1958. 338p.

Chalhoub M, Gentile LB, Prestes NC, Lopes MD, Lopes RS. Perfil dos constituintes do sangue no puerpério imediato de ovelhas submetidas à cesariana eletiva e de ovelhas com parto normal. Arq Bras Med Vet Zootec, v.52, p.440-443, 2000.

Esievo KA, Moore WE. Effects of dietary protein and stage of lactation on the hematology and erythrocyte enzymes activities of high-producing dairy cattle. Res Vet Sci, v.26, p.53-58, 1979.

Ferreira MRA Assis TS, Silva NCM, Moreira CN. Efeitos do período puerperal sobre o hemograma e teste de NBT em vacas Girolanda. Ciênc Anim Bras Supl, n.1, p.209-213, 2009. Resumo.

Fontequ JH, Takahira RK, Saito ME, Valente ACS, Barioni G, Kohayagawa A. Eritrograma, metabolismo do ferro e concentração sérica de eritropoetina em fêmeas caprinas da raça Saanen nos períodos de gestação, parto e pós-parto. Pesq Vet Bras, v.30, p.991-995, 2010.

Longo LD. Maternal blood volume and cardiac output during pregnancy: a hypothesis of endocrinologist control. Am J Physiol, v.245, p.720-729, 1983.

Pere MC, Dourmad JY, Etienne M. Variation of uterine blood flow in the sow during gestation. Journ Rech Porcine France, v.38, p.371-378, 1996.

Pugh DG. Clínica de ovinos e caprinos. São Paulo: Roca, 2005. p.501-502.

Saut JPE, Birgel Júnior EH. Influência do período pós-parto sobre o leucograma de fêmeas bovinas da raça Holandesa. Braz J Vet Res Anim Sci, v.43, p.588-597, 2006.

Saut JPE, Birgel Júnior EH. Variação dos constituintes do eritrograma em vacas Holandesas no pós-parto. Bioscie J, v.28, p.805-809, 2012.

Viana RB, Birgel Júnior EH, Ayres MCC, Benesi FJ, Mirandola RMS; Birgel EH. Influência da gestação e do puerpério sobre o eritrograma de caprinos (*Capra hircus*) da raça Saanen, criados no estado de São Paulo. Braz J Vet Res Anim Sci, v.40, p.178-184, 2003.
