

## Comunicação

[Communication]

### Citologia de medula óssea das primeiras seis semanas de vida de bovinos da raça Holandesa

[Cytology of the bone marrow of the first six weeks of life of Holstein cattle]

P.R.O. Paes, L.B. Veloso, L.P.H. Santos, E.J. Facury Filho, A.U. Carvalho,  
R.A. Carneiro, F.O.P. Leme, N.A.M. Silva

Escola de Veterinária - UFMG  
Caixa Postal 567  
30123-970 – Belo Horizonte, MG

Diversos trabalhos, nas décadas de 1950 a 1970, relataram avaliações hematológicas das primeiras semanas de vida de bezeros (Holman, 1956; Tennant et al., 1974). Mais tarde, os mecanismos fisiológicos das alterações foram discutidos em termos gerais por Jain (1993) e Kaneko et al. (1997). Com o advento de equipamentos modernos, a hematologia de bezeros foi reavaliada com a finalidade de auxiliar a interpretação clínica dos exames (Knowles et al., 2000; Brun-Hansen et al., 2006). O objetivo deste trabalho foi associar as possíveis alterações da medula óssea com as alterações hematológicas do sangue periférico durante as primeiras seis semanas de vida de bovinos.

Para tal, foram utilizados 10 bovinos da raça Holandesa. Os animais, apartados da matriz imediatamente após o nascimento, receberam três litros de colostro oriundos do banco de colostro da propriedade e, em seguida, foram transportados para um hospital veterinário escola, onde permaneceram confinados em grupos de dois a três animais. Para o hemograma, foram realizadas coletas de sangue na veia jugular nos dias de vida dois, quatro, sete, 10, 14, 21, 28, 35 e 42, e para realização do exame citológico de medula óssea, coletas de medula óssea no esterno e/ou na crista ilíaca, nos dias dois, sete, 21 e 42 de vida. O hemograma foi realizado em aparelho hematológico (Abacus Vet Jr. – Diatron), e a contagem diferencial de leucócitos do sangue periférico, assim como o exame citológico da medula óssea, em

esfregaços citológicos, utilizando-se lâminas coradas com corante hematológico rápido (Panótico – Newprov) e microscopia óptica, conforme Harvey (2001). O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso. Para análise estatística, usou-se a análise de variância; para as respostas paramétricas, a análise de regressão, seguida do teste t para comparação de médias; e para as respostas não paramétricas, os testes Friedman e Wilcoxon.

Os valores médios do eritrograma, nos diferentes momentos, estão descritos na Tab. 1. Observou-se diminuição da contagem de hemácias durante a primeira semana, seguida de elevação a partir do 10<sup>o</sup> dia, até a estabilização na quarta semana, que perdurou até o fim do experimento, com média ligeiramente acima dos valores de referência. A análise de regressão desta variável apontou  $R^2=90,5\%$  na equação  $y= 8,187 + 0,101x - 0,001x^2$ . A concentração de hemoglobina oscilou ligeiramente durante o experimento, permanecendo sempre próxima à média dos valores de referência. O volume globular (VG) diminuiu na primeira semana e elevou-se e estabilizou-se a partir do 10<sup>o</sup> dia, em valores próximos aos do segundo dia. A análise de regressão desta variável apontou  $R^2=44,9\%$  na equação  $y= 30,740 + 0,051x$ . As alterações destes três parâmetros resultaram em alterações nos índices eritrocitários.

No volume corpuscular médio (VCM), ocorreram quedas sucessivas na primeira,

---

Recebido em 16 de março de 2010

Aceito em 21 de fevereiro de 2011

E-mail: paulopaes@vet.ufmg.br

terceira e quinta semanas, apresentando-se sempre abaixo dos limites de referência. A análise de regressão desta variável apontou  $R^2=99,6\%$  na equação  $y= 36,730 - 0,233x + 0,002x^2$ . A concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) apresentou-se estável e próxima ao limite inferior de referência até a quinta semana, quando ocorreu elevação e estabilização até a semana seguinte. A amplitude de variação do volume das hemácias (RDW) apresentou elevação a partir do quarto dia até a terceira semana, quando ocorreu estabilização acima dos valores de referência. A análise de

regressão desta variável apontou  $R^2=98,8\%$  na equação  $y= 19,549 + 0,436x - 0,008x^2$ .

Estes resultados, exceto CHCM, são semelhantes aos obtidos por Brun-Hansen et al. (2006). O CHCM do trabalho citado apresentou-se abaixo dos limites de referência. Outros relatos, entretanto, apresentaram CHCM próximos aos obtidos no presente experimento (Holman, 1956; Tennant et al., 1974). Contudo, os mecanismos envolvidos nas alterações do hemograma não fazem parte do escopo deste trabalho e estão descritos em Kaneko et al. (1977) e Jain (1993).

Tabela 1. Eritrograma de bovinos da raça Holandesa, segundo os momentos (M)<sup>1</sup> avaliados

	M2	M4	M7	M10	M14	M21	M28	M35	M42	Valores de referência <sup>2</sup>
Hemácias (x10 <sup>6</sup> céls/μL)	8,8 C	8,3 D	8,4 D	9,2 C	9,6 B	9,7 B	10,2 A	10,6 A	10,4 A	5,0- 10,0
Hemoglobina (g/dL)	9,8 A	9,3 B	9,3 B	9,8 A	10,0 A	9,7 B	9,9 A	10,5 A	10,2 A	8,0-15,0
VG (%)	31,7 A	29,8 B	30,1 B	31,7 A	32,4 A	31,6 A	32,5 A	33,2 A	32,1 A	24,0-46,0
VCM (fL)	36,2 A	35,7 A	35,4 A	34,8 B	33,7 B	32,8 C	31,8 C	31,2 D	30,7 D	40,0-60,0
CHCM (g/dL)	30,8 B	31,1 B	31,0 B	30,9 B	30,6 B	30,4 B	30,4 B	31,7 A	31,6 A	30,0-36,0
RDW (%)	20,6 E	21,0 E	22,0 D	23,2 C	24,4 B	25,6 A	25,5 A	25,3 A	24,4 B	17,0-21,0

<sup>1</sup>Os números após M referem-se aos dias de vida dos animais.

Letras diferentes na linha referem-se à diferença significativa entre os momentos ( $P<0,005$ ).

<sup>2</sup>Valores de referência para bovinos adultos.

RDW: amplitude de variação do volume das hemácias.

No leucograma (Tab. 2), a contagem de leucócitos totais apresentou comportamento semelhante ao do VG, com diminuição durante a primeira semana de vida e elevação seguida de estabilização a partir do 10<sup>o</sup> dia, permanecendo próxima ao limite superior dos valores de referência para animais adultos. A contagem de neutrófilos, após diminuição no quarto dia, permaneceu praticamente estável. Exceto no segundo dia, esta variável apresentou valores médios próximos ao limite superior de referência. A contagem de linfócitos permaneceu no intervalo de referência, com elevações no quarto e 14<sup>o</sup> dias. A análise de regressão das variáveis segmentados e linfócitos apontou  $R^2=31,4\%$  na equação  $y= 6330,5 - 60,432x$  e  $R^2=94,7\%$  na equação  $y= 2803,8 + 217,38x - 3,015x^2$ , respectivamente. As variáveis

eosinófilos e bastonetes não foram avaliadas estatisticamente. Os achados do leucograma do presente experimento são semelhantes aos descritos na literatura (Holman, 1956; Tennant et al., 1974; Knowles et al., 2000; Brun-Hansen et al., 2006).

No mielograma (Tab. 3), as variáveis relação mielóide:eritroide (M:E), basófilos e plasmócitos apresentaram comportamento não paramétrico, e as demais comportamento paramétrico. Foram encontrados modelos de equação na análise de regressão das variáveis mielócitos, eosinófilos e linfócitos, com  $R^2=94,9\%$  na equação  $y= 5,615 - 0,062x$ ,  $R^2=84,7\%$ , na equação  $y= 0,516 + 0,006x$  e  $R^2=97,9\%$  na equação  $y= 0,675 + 0,005x + 0,008x^2$ , respectivamente.

*Citologia de medula óssea...*

Tabela 2. Leucograma de bovinos da raça Holandesa, segundo os momentos (M)<sup>1</sup> avaliados

	M2	M4	M7	M10	M14	M21	M28	M35	M42	Valores de referência <sup>2</sup>
Leucócitos (x10 <sup>3</sup> céls/μL)	11,9 A	9,9 B	9,0 B	11,1 A	12,7 A	13,4 A	11,6 A	11,9 A	11,1 A	4,0-12,0
Bastonetes (x10 <sup>3</sup> céls/μL)	0,05	0,02	0,00	0,00	0,02	0,05	0,02	0,00	0,00	0,0-0,1
Segmentados (x10 <sup>3</sup> céls/μL)	8,6 A	5,1 C	3,9 C	5,2 C	5,7 C	6,4 B	4,5 C	4,3 C	3,5 C	0,6-4,0
Eosinófilos (x10 <sup>3</sup> céls/μL)	0,00	0,01	0,05	0,09	0,01	0,03	0,00	0,01	0,05	0-2,4
Linfócitos (x10 <sup>3</sup> céls/μL)	2,7 C	3,8 B	4,4 B	4,9 B	5,7 A	5,8 A	6,1 A	6,7 A	6,8 A	2,5-7,5
Monócitos (x10 <sup>3</sup> céls/μL)	0,6 B	1,0 A	0,7 B	0,8 B	1,3 A	1,2 A	1,1 A	0,8 B	0,8 B	0,0-0,8

<sup>1</sup>Os números após M referem-se aos dias de vida dos animais.

Letras diferentes na linha referem-se à diferença significativa entre os momentos (P<0,005).

<sup>2</sup>Valores de referência para bovinos adultos.

Tabela 3. Exame citológico da medula óssea de bovinos da raça Holandesa, segundo os momentos avaliados<sup>1</sup>

	M2	M7	M21	M42	Valores de referência <sup>2</sup>
Relação M:E	0,60 A	0,69 A	0,67 A	0,63 A	0,61-0,97
Mieloblastos (%)	1,68 A	1,19 A	1,22 A	1,03 A	0,0-0,2
Promielócitos (%)	2,33 AB	2,73 A	1,78 B	2,00 AB	0,0-1,4
Mielócitos (%)	5,55 A	5,35 A	3,94 AB	3,18 B	2,8-3,4
Metamielócitos (%)	5,07 A	5,94 A	4,75 A	4,41 A	2,8-6,2
Bastonetes (%)	4,77 B	9,86 A	7,64 A	8,22 A	4,6-8,4
Segmentados (%)	10,14 A	9,45 A	11,23 A	10,82 A	11,2-22,6
Eosinófilos (%)	3,52 AB	2,44 B	3,83 AB	5,32 A	2,8-3,8
Basófilos (%)	0,08 A	0,09 A	0,14 A	0,00 B	0,0-1,0
Linfócitos (%)	3,71 A	2,68 AB	2,17 B	3,01 AB	3,6-6,0
Plasmócitos (%)	0,00 B	0,00 B	0,06 A	0,06 A	0,2-1,2
Monócitos (%)	2,44 A	1,29 B	1,20 B	1,62 AB	0,4-3,0
Rubriblastos (%)	1,64 A	1,25 AB	0,77 B	1,30 AB	0,0-0,2
Prorubricitos (%)	4,64 A	3,14 A	2,85 A	3,11 A	0,4-1,2
Rubricitos (%)	36,79 A	38,02 A	42,30 A	40,37 A	27,8-44,8
Metarrubricitos (%)	17,39 A	16,59 A	16,17 A	15,56 A	9,2-16,8

<sup>1</sup>Os números após M referem-se aos dias de vida dos animais.

Letras diferentes na linha referem-se à diferença entre momentos (P<0,005).

<sup>2</sup>Valores de referência para bovinos adultos.

M:E - relação mielóide:eritroide.

A relação M:E, embora tenha apresentado ampla variação individual durante os momentos, não apresentou diferença significativa entre os momentos avaliados. Na linhagem eritroide, a distribuição permaneceu piramidal, com concentração de células precursoras iniciais (rubriblastos e prorubricitos) acima dos valores de referência, embora com diminuição da concentração de rubriblastos durante o primeiro mês. Na linhagem mielóide, o compartimento

de proliferação, composto por mieloblastos, promielócitos e mielócitos, também se apresentou acima dos limites de referência, com diminuições da concentração na terceira e sexta semanas, mas permanecendo acima dos valores de referência. Embora não tenha sido encontrada notificação de maior concentração de células precursoras iniciais mielóides e eritroides em jovens das espécies humana e canina, a celularidade é reconhecidamente maior nos

jovens destas espécies (Harvey, 2001). A presença apenas ocasional de partículas da medula óssea nos bovinos impede a avaliação da porcentagem de celularidade por meio de avaliação citológica.

A concentração de eosinófilos apresentou queda na primeira semana, seguida de elevação na quinta semana, resultando, neste último momento, em média acima dos valores de referência. Como não foram realizados hemogramas após este momento, não foi possível estabelecer se este achado resultou em aumento posterior da contagem de eosinófilos no sangue periférico. Brun-Hansen et al. (2006) observaram baixa concentração de eosinófilos

nos primeiros seis meses de vida dos bovinos. Na linhagem linfoide, a concentração de linfócitos apresentou diminuição nas primeiras três semanas, com tendência à elevação na sexta semana. A diminuição dos linfócitos da medula óssea ocorreu, possivelmente, pelo deslocamento para o sangue periférico e tecidos linfoides, pois foi acompanhada de elevação da contagem de linfócitos no sangue periférico. No presente experimento, a concentração de megacariócitos não foi determinada em razão da baixa frequência de partículas, o que determinou a não avaliação da contagem de plaquetas.

Palavras-chave: bezerro recém-nascido, hematologia, citologia

### ABSTRACT

*The possible changes in the bone marrow associated with hematological changes in peripheral blood during the first six weeks of life in cattle were evaluated. To this purpose, blood samples were evaluated at 2, 4, 7, 10, 14, 21, 28, 35, and 42 days of life, and cytologic examination of bone marrow at 2, 7, 21, and 42 days of life in 10 Holstein calves. The bone marrow examination showed, in different times, myeloid:erythroid ratio from 0.60 to 0.69. The erythroid lineage distribution remained pyramidal, with concentration of precursor cells above the initial reference values for adult cattle. Proliferation pool of myeloid lineage also remained above the reference range, with decreases of concentrations in the third and sixth weeks. In the lymphoid lineage, the concentration of lymphocytes showed a decrease in the first three weeks, with a tendency to rise in the sixth week.*

*Keywords: newborn calf, hematology, cytology*

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRUN-HANSEN, H.C.; KAMPEN, A.H.; LUND, A. Hematologic values in calves during the first 6 months of life. *Vet. Clin. Pathol.*, v.35, p.182-187, 2006.

HARVEY, J.W. *Atlas of veterinary hematology*. Philadelphia: Saunders, 2001. 228p.

HOLMAN, H.H. Changes associated with age in the blood picture of calves and heifers. *Br. Vet. J.*, v.112, p.91-104, 1956.

JAIN, N.C. *Essentials of veterinary hematology*. Philadelphia: Lea & Febinger, 1993. 417p.

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5.ed. San Diego: Academic, 1997. 932p.

KNOWLES, T.G.; EDWARDS, J.E.; BAZELEY, K.J. et al. Changes in the blood biochemical and haematological profile of neonatal calves with age. *Vet. Rec.*, v.147, p.593-598, 2000.

TENNANT, B.; HARROLD, D.; REINAGUERRA, M. et al. Hematology of the neonatal calf: erythrocyte and leukocyte values of normal calves. *Cornell Vet.*, v.64, p.516-532, 1974.