

ESTUDO DAS CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DAS HEMÁCIAS DE FELINOS (*FELIS CATI*, L., 1758) NORMAIS

Eduardo Harry BIRGEL *
Mitika K. HAGIWARA **
Maria Helena M. Akao LARSSON **
Carlos Eduardo LARSSON **
Raquel Yuri MORIBE ***

RFMV-A/2

BIRGEL, E.H.; HAGIWARA, M.K.; LARSSON, M.H.M.A.; LARSSON, C.E.; MORIBE, R.Y. *Estudo das características morfológicas das hemácias de felinos (*Felis cati*, L., 1758) normais.* Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S.Paulo, 14(1):23-30, 1977.

RESUMO: *Foram analisados alguns aspectos morfológicos dos elementos sanguíneos da linhagem vermelha de felinos normais, estabelecendo o número de reticulócitos no sangue periférico, o número de hemácias contendo corpúsculos de Howell-Jolly em seu interior, o diâmetro médio das hemácias, a curva de Price-Jones padrão para a espécie e a curva de fragilidade osmótica das hemácias.*

UNITERMOS: *Eritrócitos, felinos *; Sangue, felinos *.*

INTRODUÇÃO .

A hematologia dos espécimes felinos não tem recebido, por parte dos pesquisadores, a merecida atenção, como já foi salientada por LARSSON et alii⁷ (1975). Os dados relativos aos valores hematológicos de gatos normais são incompletos, em sua maioria, principalmente no que se refere aos aspectos morfológicos dos elementos da linhagem vermelha.

No esfregaço do sangue periférico desses animais observam-se, esporadicamente, pequenos corpúsculos esféricos e picnóticos localizados na periferia das hemácias aparentemente normais que, segundo SCHÄLM¹⁰ (1975), podem ser confundidos com hematozoários. Essas formações nada mais são do que os denominados corpúsculos de Howell-Jolly e, segundo o citado autor, são encontradas mais comumente em hemácias, ainda imaturas, lançadas à circulação como

* Professor Livre-Docente.
Ex-bolsista da Fundação Alexander Von Humboldt.
** Professor Assistente.
*** Acadêmica e estagiária.
Departamento de Patologia e Clínica Médicas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da U.S.P.

resposta hemocitopoiética aos processos anêmicos. Outros elementos que se encontram aumentados no sangue periférico nos processos anêmicos são os reticulócitos. A contagem dos reticulócitos pode apresentar alguma dificuldade pela existência de hemácias que apresentam ponteados basófilos que se assemelham muito aos primeiros (CRAMER & LEWIS⁴, 1971).

No presente trabalho, os autores visam apresentar nova contribuição ao estudo da hematologia dos felinos (*Felis cati*), estabelecendo os números relativo e absoluto de reticulócitos no sangue periférico, os números relativo e absoluto de hemácias contendo corpúsculos de Howell-Jolly, bem como o diâmetro médio destes corpúsculos e das respectivas hemácias. Procuram também estabelecer a curva de Price-Jones padrão para a citada espécie animal, assim como a curva de fragilidade osmótica, complementando, desta forma, trabalho anterior de LARSSON et alii⁷ (1975).

MATERIAL E MÉTODOS

Na presente pesquisa utilizaram-se vinte gatos de idade variável de 3 meses a 4 anos, considerados clinicamente sadios, em bom estado de nutrição e isentos de doenças infecciosas e/ou parasitárias.

As amostras de sangue foram colhidas das veias safena e/ou radial, sendo o material acondicionado em frascos contendo sal dissódico do ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) a 10%. Os esfregaços de sangue foram feitos com o material "in natura".

Os métodos hematológicos empregados foram os seguintes:

— A contagem de hemácias foi realizada em hemocitômetros de Neubauer modificados com sangue diluído a 1:200 em solução fisiológica, como recomenda COLES³ (1967).

— A taxa de hemoglobina foi determinada pelo método da cianometahemoglobina, conforme COLES³ (1967).

— A determinação do volume globular foi realizada pelo método de microhematócrito, usando-se tubos capilares obturados com plastilina e submetidos a F.R.C. igual a 11.000g, durante 5 minutos, como preconiza BIRGEL² (1974).

— O cálculo dos índices hematimétricos absolutos, isto é, volume corpuscular médio (V.C.M.), hemoglobina corpuscular média (H.C.M.) e concentração de hemoglobina corpuscular média (C.H.C.M.) foram calculados conforme recomenda WINTROBE¹¹ (1969).

— As contagens de reticulócitos foram feitas em esfregaços de sangue que sofriram, inicialmente, uma coloração supra vital, com azul brilhante cresil a 1% e, posteriormente, coloração pancrômica com corante de Rosenfeld (ROSENFELD⁹, 1947). As percentagens obtidas para os reticulócitos relacionam-se à contagem de 10.000 hemácias. Além dos valores percentuais, foram calculados os números totais de reticulócitos em função da contagem global de hemácias.

— Os diâmetros médios das hemácias constituem médias ponderais do diâmetro de 100 células, medidas em microscópio provido de ocular micrométrica aferida, empregando-se uma magnitude de aumento de 1.200 vezes. As freqüências dos diâmetros das hemácias foram distribuídas, em gráficos denominados "curvas de Price-Jones".

— A espessura média das hemácias foi calculada a partir do diâmetro médio e do volume corpuscular médio das hemácias, utilizando-se a fórmula

$$E.C.M. = \frac{V.C.M.}{(\frac{\text{diâmetro médio}}{2})^2}$$

— As contagens das hemácias com corpúsculos de Howell-Jolly foram feitas em esfregaços de sangue periférico corado pelo método pancrômico (corante de Rosenfeld). As percentagens obtidas para as hemácias contendo corpúsculos de Howell-Jolly relacionam-se à verificação de 10.000 hemácias. Foram calculados também os números totais destas células, em função da contagem global de hemácias. O diâmetro médio das hemácias com corpúsculos de Howell-Jolly bem como o diâmetro médio dos corpúsculos constituem as médias ponderais do diâmetro de 20 células e de seus respectivos corpúsculos, medidos em microscópio provido de ocular micrométrica aferida, empregando-se uma magnitude de aumento de 1.200 vezes.

— A fragilidade osmótica ou resistência globular das hemácias foi medida em amostras sanguíneas de 10 animais, submetendo-as a concentrações decrescentes de cloreto de sódio de 0,78% a 0,44% e utilizando a seguinte técnica: em tubos de hemólise, pipetavam-se 5 ml das soluções salinas e 0,02 ml da amostra de sangue. Após agitação, os tubos permaneciam 30 minutos em temperatura ambiente, período após o qual eram submetidos a 2.000 r.p.m., durante 10 minutos. A leitura da concentração de hemoglobina foi feita no sobrenadante, através de fotocolorímetro, em comprimento de onda de 540 nm e utilizando-se água destilada como “blanc”. A resistência mínima foi considerada, conforme SCHALM¹⁰ (1975), a concentração na qual havia o mínimo de hemólise e, portanto, mínimo de hemoglobina no sobrenadante e a resistência máxima a concentração de NaCl na qual ocorria a hemólise total. A partir dos resultados transformados em percentagem de hemólise, estabeleceu-se a curva pa-

drão de fragilidade osmótica das hemácias de felinos normais.

RESULTADOS .

Na tabela 1 estão apresentados a média, o desvio padrão e a amplitude de variação do número de hemácias ($\times 10^6/\text{mm}^3$), volume globular (%), volume corpuscular médio (μ^3), diâmetro médio das hemácias (μ), espessura corpuscular média (μ), número percentual de reticulócitos (%), número total de reticulócitos ($10^3/\text{mm}^3$), número de hemácias contendo corpúsculos de Howell-Jolly (percentual e total), diâmetro médio dessas hemácias e dos respectivos corpúsculos (μ).

A curva de Price-Jones, traçada a partir do diâmetro médio das hemácias, está apresentada no gráfico 1. Na tabela 2 estão apresentados os valores médios, o desvio padrão e a amplitude de variação da resistência globular; a curva de fragilidade osmótica obtida está apresentada no gráfico 2.

TABELA 1 — Características morfológicas das hemácias de felinos normais — valores médios, desvio padrão e amplitude de variação. São Paulo, 1977.

Características	média	desvio padrão	amplitude mínimo	variação máximo
Hemácias ($10^6/\text{mm}^3$)	7,04	1,54	5,40	11,24
Hematócrito (%)	30,60	5,90	20,00	45,00
Volume corpuscular médio (μ^3)	44,10	5,10	32,30	53,30
Diâmetro médio hemácias (μ)	5,58	0,23	5,06	6,00
Espessura corpuscular média (μ)	1,81	0,23	1,29	2,29
Reticulócitos (%)	0,02	0,01	0,01	0,05
nº total ($10^3/\text{mm}^3$)	0,15	0,07	0,07	0,25
Hemácias contendo C.H.J.* (%)	0,17	0,08	0,03	0,33
nº total ($10^3/\text{mm}^3$)	1,24	0,69	0,15	2,64
Diâmetro médio hemácias contendo C.H.J.* (μ)	5,43	0,35	4,93	6,15
Diâmetro médio C.H.J.* (μ)	0,87	0,16	0,67	1,16

* Corpúsculos de Howell-Jolly.

TABELA 2 – Fragilidade osmótica (F.O.) das hemácias de felinos normais – valores médios, desvio padrão e amplitude de variação. São Paulo, 1977.

Concentração NaCl (%)	F.O. média (% hemólise)	desvio padrão (% hemólise)	F.O. mínima (% hemólise)	F.O. máxima (% hemólise)
0,52	100,0	–	100,0	100,0
0,54	99,8	0,6	98,0	100,0
0,56	98,2	2,0	95,0	100,0
0,58	94,7	2,8	89,0	100,0
0,60	91,0	4,7	84,0	97,0
0,62	84,0	3,7	79,0	90,0
0,64	78,4	6,8	66,0	88,0
0,66	64,8	10,7	44,0	80,0
0,68	53,1	10,6	29,0	68,0
0,70	39,0	10,2	23,0	57,0
0,72	29,5	9,3	9,0	43,0
0,74	14,5	5,2	6,0	24,0
0,76	2,7	3,3	–	9,0
0,78	–	–	–	–

DISCUSSÃO

Na análise dos valores sanguíneos dos elementos da linhagem vermelha não se levaram em consideração a idade e o sexo dos animais, pois LARSSON et alii⁷ (1975), estudando o hemograma completo de 20 animais, concluíram não haver diferenças estatisticamente significantes atribuíveis à influência desses fatores.

Os valores obtidos para o número de hemácias, volume globular e volume corpuscular médio estão dentro dos parâmetros estabelecidos por LARSSON et alii⁷ (1975), bem como concordam com os valores citados por SCHALM¹⁰ (1975).

As hemácias de felinos são relativamente pequenas como se pode verificar pelo volume corpuscular médio e diâmetro médio. Idênticos resultados haviam sido obtidos por PENNY et alii⁸ (1970). Pela curva de Price-Jones estabelecida a partir do diâmetro médio das hemácias pode-se observar que as mesmas apresentam pequena anisocitose.

Em relação ao número de reticulócitos encontrados na circulação periférica existe uma discordância muito grande. Assim, JENNINGS⁶ (1947) cita uma média de 0,15% de reticulócitos ao passo que PENNY et alii⁸ (1970) dão valores médios de $0,05 \pm 0,09\%$. Apesar de SCHALM¹⁰ (1975) considerar estes últimos valores irrisoriamente

GRAFICO I

CURVA DE PRICE-JONES PADRÃO PARA FELINOS (*FELIS CATI*)
(CURVA MÉDIA E AMPLITUDE DE VARIAÇÃO)

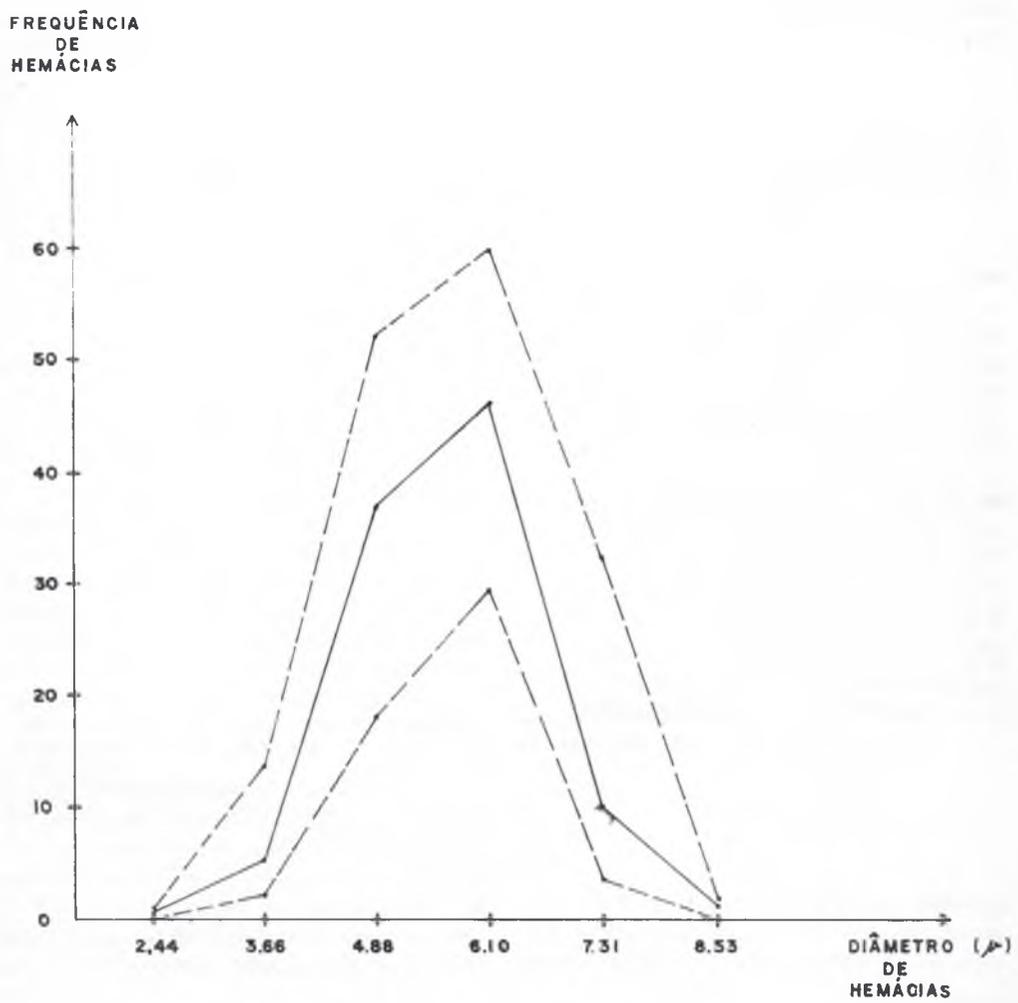
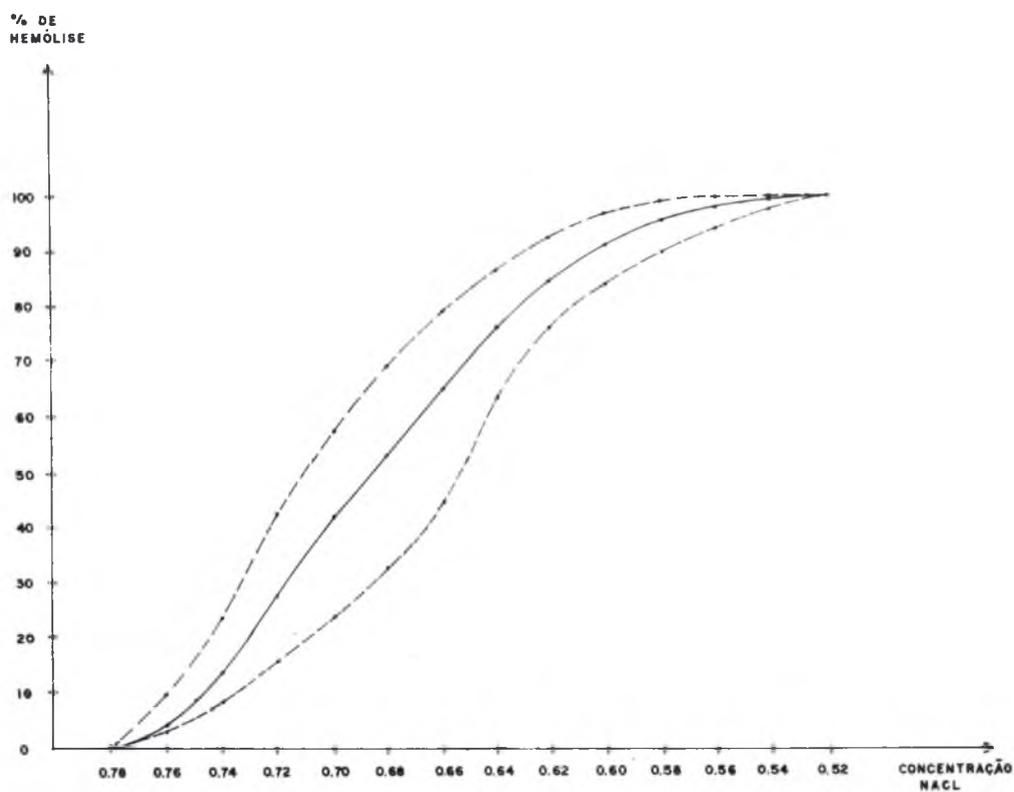


GRAFICO II

CURVA DE FRAGILIDADE OSMÓTICA DAS HEMÁCIAS DE FELINOS (*FELIS CATI*) VALORES MEDIOS DE HEMOLISE (%) E AMPLITUDE DE VARIAÇÃO



te baixos, os valores obtidos no presente trabalho são concordes com os de PENNY et alii⁸ (1970).

Os corpúsculos de Howell-Jolly são encontrados com relativa freqüência no esfregaço sanguíneo de sangue periférico de felinos e podem ser confundidos com hematozoários ou outras formações intracelulares (SCHALM¹⁰, 1975). Pela mensuração realizada, na qual se obteve diâmetro médio igual a $0,86\mu$ com desvio padrão de $0,16\mu$, observa-se que são corpúsculos de tamanho e forma relativamente homogêneos não havendo, portanto, possibilidade de serem confundidos com outros elementos, principalmente com os hematozoários que são mais pleomórficos. As hemácias que contém os corpúsculos de Howell-Jolly são células aparentemente iguais às outras do mesmo animal. Assim, não se observaram diferenças no diâmetro médio das mesmas, quando comparadas com as hemácias que não continham corpúsculos. De modo geral, os corpúsculos de Howell-Jolly são observados em hemácias, ainda imaturas, lançadas à circulação em resposta a um processo anêmico (SCHALM¹⁰, 1975). Entretanto, HANNON⁵ (1940) já havia indicado que os gatos normais apresentam estruturas semelhantes, em algumas hemácias, sem nenhuma relação com o aumento da eritrogênese. O significado da presença desses corpúsculos em hemácias de gatos normais não está perfeitamente esclarecido, havendo necessidade de estudos mais profundos para elucidação do assunto.

A fragilidade osmótica dos glóbulos vermelhos está relacionada à forma e ao tamanho das células (WINTROBE¹¹, 1969). Assim, entre os mamíferos, as hemácias de caprinos são as mais sensíveis à hemólise em soluções hipotônicas (BIRGEL¹, 1973). As hemácias de felinos, sendo relativamente pequenas e esféricas, apresentam, também, hemólise completa em torno de concentração salina de 0,50% (SCHALM¹⁰, 1975). Os dados obtidos no presente trabalho são concordes com essas afirmações.

A concentração máxima de NaCl utilizada foi de 0,78% e já, em concentração de 0,76%, houve hemólise em alguns casos. Por este motivo, acreditamos ser necessária a utilização de soluções salinas mais concentra-

das, quando se procura conhecer a fragilidade osmótica das hemácias nos diversos processos patológicos relacionados aos elementos da série eritrocitária.

CONCLUSÕES.

- 1 - Os números relativo e absoluto dos reticulócitos no sangue periférico de gatos normais são baixos, oscilando ao redor de $0,02 \pm 0,01\%$ e $0,15 \pm 0,07.10^3/mm^3$, respectivamente.
- 2 - Os corpúsculos de Howell-Jolly são encontrados na proporção de $0,17 \pm 0,08\%$ e o número total de hemácias com esses corpúsculos é de $1,24 \pm 0,69.10^3/mm^3$.
- 3 - O diâmetro médio das hemácias contendo corpúsculo de Howell-Jolly é de $5,43 \pm 0,35\mu$ e o diâmetro médio do corpúsculo de Howell-Jolly é de $0,87 \pm 0,16\mu$.
- 4 - O diâmetro médio e a espessura corpuscular média são de $5,58 \pm 0,23\mu$ e $1,81 \pm 0,23\mu$, respectivamente. A curva de Price-Jones estabelecida demonstra que a anisocitose observada no sangue de felinos é de pequena intensidade.
- 5 - As hemácias de felinos normais são relativamente pouco resistentes às soluções hipotônicas, observando-se fragilidade mínima em soluções de NaCl a 0,76% e a fragilidade máxima em concentração de 0,52%, formando a curva média de fragilidade globular uma perfeita sigmóide.

AGRADECIMENTOS.

À Srta. Regina Mieko Sakata, pela valiosa colaboração técnica na execução do presente trabalho.

BIRGEL, E.H.; HAGIWARA, M.K.; LARSSON, M.H.M.A.; LARSSON, C.E.; MORIBE, R.Y. Study of morphological characteristic of health cats erythrocytes. Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S.Paulo, 14(1):23-30, 1977.

SUMMARY: Some morphologic aspects of healthy cats erythrocytes were studied. In 20 cats, the values obtained were the following, expressed by mean and standard deviation:

Red blood cells diameter(μ)	5,58 \pm 0,23
Mean corpuscular thickness(μ)	1,81 \pm 0,23
Reticulocytes (%)	0,02 \pm 0,01
Reticulocytes (thousand/cu mm)	0,15 \pm 0,07
Red blood cells containing Howell-Jolly bodies (%)	0,17 \pm 0,08
Red blood cells containing Howell-Jolly bodies (thousand/cu mm)	1,24 \pm 0,69
Diameter of red blood cells containing Howell-Jolly bodies (μ)	5,43 \pm 0,35
Howell-Jolly bodies diameter (μ)	0,87 \pm 0,16

The Price-Jones curve demonstrated that there is a light anisocytosis in cat peripheral blood. The minimum and maximum osmotic fragility to hipotonic saline were observed, respectively, at 0,76% and 0,52%.

UNITERMS: Blood feline*; Erythrocytes, feline*;

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - BIRGEL, E.H. Estudo do quadro eritrocitário de caprinos (*Capra hircus*, L.) normais criados no Estado de São Paulo São Paulo 1973. (Tese - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo).
- 2 - BIRGEL, E.H. Métodos de diagnóstico em hematologia clínica. In: BIRGEL, E.H. et alii, ed. Meios e métodos diagnósticos em medicina veterinária. 3.ed. São Paulo, Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, 1974. p.25-54.
- 3 - COLES, E.H. Veterinary clinical pathology. Philadelphia, W.B. Saunders, 1967. p.76-81.
- 4 - CRAMER, D.W. & LEWIS, R.M. Reticulocytes response in the cat. J. Amer. vet. med. Ass., 160: 61, 1971.
- 5 - HANNON, W.D. Cellular blood elements of normal kittens. Anat. Rec., 76: 259, 1940.
- 6 - JENNINGS, A.R. Haematology of healthy kittens. Vet. J., 103: 234-39, 1947.
- 7 - LARSSON, M.H.M.A.; HAGIWARA, M.K.; LARSSON, C.E.; BIRGEL, E.H.; MIGLIANO, M.F. Valores hematológicos de felinos (*Felis cati*, L., 1758) normais. Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S.Paulo, 12: 185-96, 1975.
- 8 - PENNY, R.H.C.; CARLISLE, C.H.; DAVIDSON, H.A. The blood and marrow picture of the cat. Brit. vet. J., 126: 459-64, 1970.
- 9 - ROSENFELD, G. Corante pancrômico para hematologia e citologia clínica. Nova combinação dos componentes do May-Gruenwald e do Giemsa num só corante. Mem. Inst. Butantan, 20: 329-34, 1947.
- 10 - SCHALM, O.W. Veterinary hematology. 3.ed. Philadelphia. Lea & Febiger, 1975. p.109-21.
- 11 - WINTROBL, M.M. Hematologia clínica. 3.ed. Buenos Aires, Inter Medica, 1969. p.133; 313-41.

Recebido para publicação em 5-5-77
Aprovado para publicação em 3-8-77