

## REGENERAÇÃO DE HEMÁCIAS, HEMOGLOBINA E PROTEÍNAS EM CAVALOS APÓS SANGRIAS. INFLUÊNCIA DO FERRO E DA SOJA

POR L. NAHAS & G. ROSENFELD

(Laboratório de Hematologia do Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil)

Whipple e Robscheit-Robbins (1), em cães com anemia correspondente a 50% mantida por sangrias repetidas, demonstraram que o sulfato ferroso acelera a produção de hemoglobina, mas que doses acima de um ótimo, que foi de 40 mg diárias por via oral nessas experiências, não provocavam aumento de regeneração.

Buechler e Guggenheim (2) mostraram que proteínas da soja exercem ação favorável sobre a formação de hemoglobina. Ratos que receberam 9 g de farinha de soja por dia, apresentaram uma produção diária de 2% de hemoglobina.

A farinha de soja favorece também a recuperação da taxa de proteínas plasmáticas, segundo as experiências de McNaught, Scott, Woods e Whipple (3) em cães desproteinizados por plasmaferese. Usando soja em doses correspondentes a 130-170 g de proteínas por semana, 24 horas após a ingestão, constataram um aumento de proteínas do plasma mais acentuado para as albuminas, ao contrário do que acontece com a maioria dos cereais que aumentam nitidamente as globulinas.

Lewis e Taylor (4) demonstraram que a soja autoclavada apresentava vantagens em relação à soja crua. Indivíduos alimentados com essa substância autoclavada apresentavam uma retenção de azoto protéico 20% maior do que aqueles que receberam soja crua.

Nosso objetivo foi verificar a influência do ferro e da farinha de soja, associados ou não, na regeneração das hemácias, hemoglobina e proteínas plasmáticas, após grandes sangrias, em cavalos utilizados na produção de soro antitetânico no Instituto Butantan.

### MATERIAL E METODOS

Quinze cavalos usados rotineiramente para a produção de soro antitetânico foram divididos em 5 lotes de acordo com a dieta diária:

---

Entregue para publicação em 27 de novembro de 1951.



Lote 1 — regime habitual (alfafa, capim angola, cana e milho à vontade, sal uma vez por semana).

Lote 2 — regime habitual + 1 g de sulfato ferroso + 9 g de cloreto de sódio.

Lote 3 — regime habitual + 1 g de sulfato ferroso + 100 g de soja + 9 g de cloreto de sódio.

Lote 4 — regime habitual + 2 g de sulfato ferroso + 9 g de cloreto de sódio.

Lote 5 — regime habitual + 2 g de sulfato ferroso + 300 g de soja + 9 g de cloreto de sódio.

A dieta suplementar era administrada antes da ração habitual e feito controle atim de verificar si os animais ingeriam todas as substâncias. A farinha de soja foi autoclavada durante 1 hora a 120.º.

Vinte e quatro horas antes da sangria fazia-se um primeiro exame, outro, 24 horas depois, prosseguindo-se com exames semanais. As determinações foram feitas em sangue venoso oxalatado a 0,2 g %. A hemoglobina foi dosada em electrofotômetro e as proteínas totais, no plasma oxalatado, pelo método de Philips. As sangrias atingiam 5% do peso do animal e eram feitas em dias consecutivos.

### RESULTADOS

A média do aumento diário era determinada da seguinte maneira: para cada elemento, as diferenças entre o valor mínimo e máximo era dividida pelo número de dias que o animal necessitava para atingir o valor máximo. Com esses aumentos diários para cada animal foi determinada a média para cada lote. O tempo de regeneração para cada elemento foi baseado no número de dias decorridos desde a sangria até o animal atingir o valor máximo do elemento considerado.

TABELA 1

*Médias dos aumentos diários após a 1.ª sangria*

(3 cavalos em cada lote)

Média do aumento diário	Lote 1 Regime habitual	Lote 2 Ferro 1 g	Lote 3 Ferro 1 g + soja 100 g	Lote 4 Ferro 2 g	Lote 5 Ferro 2 g + soja 300 g
Hemácias mm <sup>3</sup>	75.179	65.950	120.307	66.220	71.065
Hemoglobina g %	0,136	0,133	0,210	0,116	0,153
Proteínas g %	0,075	0,071	0,182	0,052	0,104



O sulfato ferroso nas doses de 1 ou 2 g diárias não acelerou a regeneração das hemácias, hemoglobina ou proteínas plasmáticas. O sulfato ferroso adicionado à farinha de soja autoclavada na dose de 1 g de sulfato ferroso com 100 g de soja (lote 3) mostrou um nítido aumento diário de hemácias, hemoglobina e proteínas plasmáticas. No entanto, esse aumento parece ter sido ocasional para as hemácias e hemoglobina, pois doses maiores das mesmas substâncias, isto é 2 g de sulfato ferroso e 300 g de farinha de soja (lote 5) não mostraram nenhum aumento desses elementos. Houve, porém, aumento de produção de proteínas nos lotes 3 e 5 que receberam farinha de soja (Tabela 1).

TABELA 2

*Tempo de regeneração em dias após a 1.<sup>a</sup> sangria*  
(3 cavalos em cada lote)

Elementos	Lote 1 Regime habitual		Lote 2 Ferro 1 g		Lote 3 Ferro 1g + soja 100g		Lote 4 Ferro 2g		Lote 5 Ferro 2g + soja 300g	
	Varição individual	Média	Varição individual	Média	Varição individual	Média	Varição individual	Média	Varição individual	Média
Hemácias	28-70	54	42-70	56	21-49	33	28-63	49	49-63	50
Hemoglobina	28-70	54	49-70	58	21-42	35	42-63	49	42-49	47
Proteínas	35-77	58	42-84	63	7-84	42		56	21-70	44

A tabela 2 mostra a variação individual do tempo de regeneração e a média desses tempos. Pelos valores obtidos, verifica-se que 1g de sulfato ferroso + 100g de farinha de soja (lote 3) proporcionou uma regeneração mais rápida. Entretanto, isso não deve ser devido a essas substâncias, pois doses maiores das mesmas não provocaram diferença em relação ao controle (lote 1).

Comparando os valores antes e depois da 1.<sup>a</sup> sangria, observa-se (tabela 3) que houve uma recuperação completa em todos os lotes, para todos elementos, tendo mesmo sido atingidos valores superiores aos iniciais. Não demonstraram vantagem aqueles que receberam dieta suplementar, tanto de ferro como ferro associado à soja.



TABELA 3

*Valores anteriores e máximos atingidos depois da 1.<sup>a</sup> sangria  
Os valores representados são as médias de 3 cavalos em cada lote*

Lote	Hémacias x 1.000 mm <sup>3</sup>		Hemoglobina g %		Proteínas g %		Anticorpos (**) U. I. / ml	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	7.660	8.897	14,5	15,9	9,26	11,54	650	650
2	6.730	8.860	13,0	15,7	9,26	11,54	733	1.017
3	7.540	9.060	13,5	15,6	8,97	11,09	533	117
4	8.150	7.480	13,5	14,6	8,97	9,95	650	650
5	7.230	8.230	13,5	15,3	8,72	9,95	967	650

(\*) Lote 1 — Regime habitual.

Lote 2 — Regime habitual + 1g sulfato ferroso.

Lote 3 — Regime habitual + 1g sulfato ferroso + 100g soja.

Lote 4 — Regime habitual + 2g sulfato ferroso.

Lote 5 — Regime habitual + 2g sulfato ferroso + 300g soja.

(\*\*) U. I. (unidades internacionais). A titulação de anticorpos foi feita no Laboratório de Imunologia pelo dr. Murilo P. Azevedo.

TABELA 4

*Tempo de regeneração em dias após a 2.<sup>a</sup> sangria*

Elementos	Lote 1 3 cavalos Regime habitual		Lote 2 3 cavalos Ferro 1g		Lote 3 1 cavalo Ferro 1g + soja 100g
	Variação individual	Média	Variação individual	Média	
Hemácias	35-70	54	63-77	68	56
Hemoglobina	35-56	44	56-77	66	56
Proteínas	21-63	36	14-42	33	42

Após uma segunda sangria o tempo de regeneração (Tabela 4) foi sensivelmente o mesmo, que após a primeira (Tabela 3). Porém, o ritmo diário da regeneração das hemácias, hemoglobina e proteínas foi menor (Tabela 5). Nessa fase o ferro associado à farinha de soja (lote 3) provocou um ritmo mais rápido do que somente o ferro ou o regime habitual. Todavia no que se refere às proteínas plasmáticas os animais não conseguiram refazer-se completamente, pois não foram atingidos os níveis anteriores à sangria (Tabela 6).



Nenhuma das dietas mostrou ação favorável sobre a produção de anticorpos, quer na primeira quer na segunda sangria (Tabela 5).

TABELA 5  
*Comparação da regeneração após a 1.<sup>a</sup> e 2.<sup>a</sup> sangrias*  
*Médias dos aumentos diários*

	Lote 1 Regime Habitual 3 cavalos	Lote 2 Ferro 1g 3 cavalos	Lote 3 Ferro 1g + soja 100g 1 cavalo
Hemácias por mm <sup>3</sup>			
1 <sup>a</sup> sangria	75.179	65.950	120.307
2 <sup>a</sup> sangria	41.090	36.363	69.500
Hemoglobina g %			
1 <sup>a</sup> sangria	0,136	0,133	0,210
2 <sup>a</sup> sangria	0,123	0,098	0,153
Proteínas g %			
1 <sup>a</sup> sangria	0,075	0,071	0,182
2 <sup>a</sup> sangria	0,046	0,049	0,016

TABELA 6  
*Médias dos valores anteriores e máximo atingido depois da 2.<sup>a</sup> sangria*  
*2. Fauna de Santos, Estado de S. Paulo*

Lote (*)	Hemácias x 1.000 mm <sup>3</sup>		Hemoglobina g %		Proteínas g %	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1 3 cavalos	8.240	7.633	15,1	15,4	10,18	8,33
2 3 cavalos	8.040	8.280	14,2	16,1	11,09	9,49
3 1 cavalo	8.390	9.060	14,6	15,6	12,00	7,89

(\*) Lote 1 — Regime habitual.  
Lote 2 — Regime habitual + 1g sulfato ferroso.  
Lote 3 — Regime habitual + 1g sulfato ferroso + 100g soja.

#### DISCUSSÃO

Após a primeira sangria, verificou-se que a suplementação da ração habitual com sulfato ferroso isolado ou associado à soja não melhorou a regeneração



sanguínea. Isso demonstra que a ração dada aos animais controles era suficientemente rica dos elementos indispensáveis, de nada valendo um excesso de ferro, como já haviam demonstrado Wipple e R. Robbins (1). Essa primeira sangria, embora atingisse 5% do peso corporal não prejudicou *aparentemente* os animais, pois as hemácias, a hemoglobina e as proteínas plasmáticas atingiram valores superiores aos verificados antes da sangria. Entretanto, após uma segunda sangria não houve recuperação completa das hemácias e hemoglobina e somente animais que receberam suplemento de ferro e soja atingiram ou superaram os valores iniciais. Isto significa que apesar da regeneração aparentemente ótima após a primeira sangria, houve diminuição das reservas de ferro e proteínas, evidenciada pela regeneração deficiente após a segunda sangria. A administração de ferro compensou a deficiência da reserva, porém a de proteínas não foi possível compensar com a soja. Além disso, evidenciou-se também uma certa incapacidade dos órgãos hematopoiéticos, pois a regeneração das hemácias, hemoglobina e proteínas foi menor mesmo nos lotes tratados com dieta suplementar (Tabela 5).

Baseados no retorno ao nível anterior das hemácias e hemoglobina, Vaz e Araujo (5) concluíram que o tempo suficiente para a recuperação é de mais ou menos um mês, afirmando por isso, que após esse tempo, pode ser iniciada uma nova imunização sem prejuízo para os órgãos hematopoiéticos. Nossos resultados não concordam com esses dados, pois que, não só o tempo necessário para a recuperação das hemácias foi maior (médias de 33 a 68 dias) como também o simples retorno a valores de hemácias e hemoglobina iguais ou superiores aos anteriores não significa que o animal esteja em condições idênticas, porque, após uma segunda sangria não houve o mesmo comportamento, tendo sido necessária a suplementação de ferro e proteínas, afim de favorecer até certo ponto, a produção de hemácias e hemoglobina, sem conseguir, entretanto, recuperar as proteínas plasmáticas.

#### RESUMO

Em cavalos do serviço de imunização anti-tetânica foi experimentada a influência do sulfato ferroso isolado ou associado à farinha de soja autoclavada, sobre a regeneração das hemácias, hemoglobina e proteínas plasmáticas após sangria.

O tempo individual de regeneração foi sensivelmente igual após a 1.<sup>a</sup> e 2.<sup>a</sup> sangrias, oscilando entre os limites de 21 e 77 dias. A primeira sangria não prejudicou aparentemente os animais, pois as hemácias, hemoglobina e proteínas atingiram níveis mais elevados que as anteriores à sangria, não tendo demonstrado vantagens a administração de ferro nem soja nessa fase. Depois da segunda sangria a regeneração não foi tão boa tendo reagido mais favoravelmente os



animais tratados com di ta suplementar. No entanto nessa fase houve deficiência da regenera o das proteínas em todos os animais.

Os títulos de anticorpos não foram influenciados pelas dietas suplementares.

Esses dados demonstram que o tempo de descanso deve ser maior do que indica a simples recupera o dos valores de hemácias e hemoglobina, pois há um esgotamento relativo dos órgãos hematopoiéticos que são   compensado parcialmente pela administra o de ferro e soja.

Agradecemos ao prof. C. H. Liberalli, que nos forneceu parte da farinha de soja.

#### SUMMARY

It was investigated the influence of ferrous sulphate associated or not to soybean on the regeneration of the red blood cells, hemoglobin and plasma proteins after bleeding of horses utilized in the production of anti-tetanic serum.

The results show that the regeneration time is practically the same after the first and second bleeding, being between the limits of 21-77 days. The first bleeding *seems* to have no effect on the animals, as the red blood cells, hemoglobin and plasma proteins values are even higher than before, hence the administration of iron or soybean is of no advantage in this phase. After the second bleeding the regeneration is not as good as after the first bleeding, but the animals treated with the supplementary diet react a little better. All animals show a deficient protein regeneration in this phase.

The antibody content is not influenced by the supplementary diet.

These results show that the resting time after large bleeding must be longer than the indicated by the simple recuperation of blood cell and hemoglobin values. There exists a relative exhaustion of the hematopoietic organs which can be only partially compensated by the administration of iron or soybean.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Whipple, G. H. & Robscheit-Robbins, F. S. — Blood regeneration in severe anemia; optimum iron therapy and salt effect, *Amer. J. Physiol.* 92: 326, 1930.
2. Buechler, E. & Guggenheim, K. — Effect of quantitative and qualitative protein deficiency on blood regeneration: II Hemoglobin, *Blood* 4: 964, 1949.
3. McNaught, J. B.; Scott, V. C.; Woods, F. M. & Whipple, G. H. — Blood plasma protein regeneration controlled by diet; effects of plant protein compared with animal proteins; influence by fasting and infection, *J. Exper. Med.* 63: 277, 1936.
4. Lewis, J. H. & Taylor, F. H. L. — Comparative utilization of raw and autoclaved soy bean protein by the human, *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 64: 85, 1947.
5. Vaz, E. & Araujo, P. — Da Sangria de animais de imuniza o, *Mem. Instituto Butantan* 21: 275, 1948.



