

Estudo eritroleucométrico e proteinograma sérico do sangue do cordão umbilical e jugular de equinos ao nascimento e de suas respectivas mães

[*Erythrocytometry and seric proteinogram of umbilical cord and jugular of foals at birth and respective mothers*]

R.F. Godoy¹, A.E. Santana², E. Campos Filho², J.V. Oliveira³

¹Aluna de pós-graduação - FCAV-UNESP – Jaboticabal, SP

²Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP

Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n

14884-900 – Jaboticabal, SP

³Pólo Regional de Desenvolvimento Tecnológico -APTA – Colina, SP

RESUMO

Colheram-se amostras de sangue do cordão umbilical (SCU) e do sangue circulante de cinco equinos neonatos, imediatamente após o nascimento, e o sangue da própria mãe, utilizando-se um sistema a vácuo. O material foi submetido à contagem global de hemácias e leucócitos e à determinação do volume globular e da concentração de hemoglobina; à contagem diferencial de leucócitos em esfregaços sangüíneos; e ao cálculo dos índices eritrocitométricos. Foram realizadas a dosagem de proteínas séricas totais e a eletroforese das proteínas séricas em gel de agarose. Não houve diferenças significativas entre os parâmetros do SCU e do sangue da jugular dos potros. No SCU dos potros observaram-se valores mais elevados para contagem global de hemácias ($9,75 \times 10^6/\mu\text{l}$), dosagem de hemoglobina (14,65g/dl) e concentração de hemoglobina corpuscular média (37,23g/dl); e valores menores para volume corpuscular médio (40,50fl), proteína total (4,37g/dl), α -globulinas (0,65g/dl), β -globulinas (1,10g/dl), γ -globulinas (0g/dl) e contagens global ($5,40 \times 10^3/\mu\text{l}$) e diferencial de leucócitos, exceto contagem de neutrófilos bastonetes e monócitos, quando comparados com os valores obtidos no sangue de suas mães.

Palavras-chave: equino, cordão umbilical, hematologia

ABSTRACT

Umbilical cord blood (UCB) and systemic blood samples were collected from five equine neonates, immediately after birth. Systemic blood samples from their mothers were also collected at the same time, using a vacuum system. The samples were submitted to the following analyses: red blood cell and total white blood cell counts; determinations of packed cell volume and hemoglobin concentration; differential white cell count in blood smears; and determination of erythrocytometric values. Total serum proteins quantification and serum proteins electrophoresis in agarose gel were done. No significant difference ($P < 0.05$) was noted between averages in neonate jugular blood and equine UCB. Equine UCB showed higher values of red blood cell count ($9.75 \times 10^6/\mu\text{l}$), hemoglobin determination (14.65g/dl), and mean corpuscular hemoglobin concentration (37.23g/dl); but lower values of mean corpuscular volume (40.50fl), total protein (4.37g/dl), α -globulin (0.65 g/dl), β -globulin (1.10g/dl), γ -globulin (0g/dl), total ($5.40 \times 10^3/\mu\text{l}$), and differential leukocytes count, except for band neutrophils and monocytes counts, when compared to the blood of the mares.

Keywords: horse, hematology, umbilical cord

Recebido em 26 de março de 2007

Aceito em 17 de setembro de 2007

E-mail: robertagodoy@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

O estudo do sangue do cordão umbilical (SCU) é relevante e trabalhos recentes têm demonstrado a presença de células-tronco no sangue do cordão umbilical humano, representando uma fonte alternativa à reconstituição hematopoética e de outros tecidos (Broxmeyer et al., 1991; Vilmer et al., 1992; Wagner et al., 1992).

Há poucos trabalhos publicados sobre valores eritroleucométricos normais de fetos e neonatos eqüinos (Allen et al., 1998), e nenhum trabalho publicado sobre valores eritroleucométricos do SCU em eqüinos.

Os valores do hematócrito e a concentração de hemoglobina atingem patamares similares aos de eqüídeos adultos por volta de 300 dias de vida intra-uterina, e, ao nascimento, esses valores variam de 40-52% para o hematócrito e 13,4-19,9g/dl para a concentração de hemoglobina, como verificado em potros das raças Quarto de Milha e Puro Sangue Inglês (Jeffcott et al., 1982; Harvey, 1990). De acordo com Harvey et al. (1984; 1987) e Harvey (1990), a contagem global de hemácias em potros ao nascimento ($9,3-12,9 \times 10^6/\mu\text{l}$) encontra-se dentro ou acima dos limites considerados normais para cavalos adultos. O volume corpuscular médio (VCM) revela-se elevado no início do desenvolvimento fetal, diminui para próximo dos valores normais de eqüinos adultos aos 300 dias de vida intra-uterina e, ao nascimento, situa-se entre 37-45fl (Jeffcott et al., 1982). No aspecto morfológico, é freqüente, no sangue dos eqüinos neonatos, a anisocitose (Allen et al., 1998). A concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) é constante durante o desenvolvimento fetal, assim como do nascimento até a vida adulta, e varia de 32 a 40g/dl (Harvey, 1990; Allen et al., 1998).

Em potros, ao nascimento, a contagem global de leucócitos varia de 4,9 a $12,0 \times 10^3/\mu\text{l}$ de sangue (Lassen e Swardson, 1995) e o número de neutrófilos segmentados chega a valores médios de $5500/\mu\text{l}$. Neutrófilos bastonetes estão ausentes ou em número reduzido em potros a termo e não excedem a $150/\mu\text{l}$ (Harvey, 1990). Nos dois terços finais de vida intra-uterina, eqüinos apresentam contagens linfocitárias que se aproximam daquelas dos polimorfonucleares neutrofilicos, e alcançam valores em torno de $3000/\mu\text{l}$ (Jeffcott et al., 1982; Jain, 1986). A

relação entre neutrófilos e linfócitos (N:L), em potros a termo, varia de 2:1 a 6:1 (Allen et al., 1998). Por outro lado, em potros prematuros o quociente da relação N:L é de $0,68 \pm 0,22$ (Chavatte et al., 1991).

Os eosinófilos geralmente estão ausentes no sangue circulante do potro ao nascimento (Harvey, 1990) e só aparecem a partir de sete dias de vida (Medeiros et al., 1971). Os monócitos e basófilos aparecem em número relativamente estável desde o nascimento até a vida adulta e seus valores absolutos ao nascimento são $0,04-0,43 \times 10^3/\mu\text{l}$ e $0-0,02 \times 10^3/\mu\text{l}$, respectivamente (Jain, 1986; Harvey, 1990).

A transferência de imunoglobulinas maternas para o feto eqüino, intra-uterinamente, não ocorre devido à placentação epiteliocorial difusa que a égua apresenta. Antes de ingerir o colostro, portanto, o potro apresenta concentrações insuficientes de imunoglobulinas (LeBlanc, 1990 e Jainudeen e Hafez, 1995). Ao nascimento, antes da ingestão do colostro, as proteínas séricas totais do potro variam de 4,4 a 5,9g/dl (Harvey et al., 1984; 1987).

Apesar da importância do sangue do cordão umbilical como fonte de células-tronco, do advento da imunofenotipagem de linfócitos e dos modelos experimentais em cães, são ainda muito incipientes os estudos das variáveis sangüíneas do cordão umbilical em animais domésticos. Este trabalho foi realizado com os objetivos de avaliar o sangue e comparar o balanço eritroleucométrico e seroprotéico do sangue colhido do SCU e da jugular de eqüinos recém-nascidos e do sangue da jugular de suas respectivas mães.

MATERIAL E MÉTODOS

As colheitas do SCU e da jugular foram realizadas em cinco potros e suas respectivas mães, da raça Brasileiro de Hipismo do Pólo Regional de Desenvolvimento Tecnológico dos Agronegócios da Alta Mogiana – Colina, SP, durante a estação de parição da espécie. Os seguintes grupos experimentais (G) foram constituídos: GE1 - sangue da jugular de neonatos eqüinos; GE2- SCU eqüino; e GE3- sangue da jugular das mães.

Imediatamente após o nascimento, amostras do SCU foram colhidas, antes da dequitação placentária, mediante punção da veia umbilical. Em seguida, foram colhidas amostras do sangue circulante, tanto do potro quanto da mãe, por venipunção jugular. Uma alíquota de sangue foi acondicionada em tubo com EDTA e outra em tubo sem anticoagulante.

As contagens globais de hemácias e leucócitos e as determinações do volume globular e da concentração de hemoglobina foram obtidas com o auxílio de um contador automático de células ACT-8¹. A partir dos valores obtidos para hemácias, volume globular e hemoglobina, calcularam-se os índices eritrocíticos de Wintrobe (VCM, HCM e CHCM). As contagens diferenciais de leucócitos foram realizadas em esfregaços sangüíneos corados com uma mistura de metanol, May-Grunwald e Giemsa (MMG). As proteínas séricas totais foram avaliadas pelo método do biureto, com auxílio de um conjunto de reagentes e leitura espectrofotométrica no Labquest².

O fracionamento eletroforético das proteínas séricas foi obtido como se segue: após o preenchimento da cuba com tampão Veronal/EDTA 0,05M, pH 8,6, no filme de agarose³, aplicaram-se alíquotas de 1,0µl de soro. Em seguida, a eletroforese (90 volts) correu por 35 minutos. O filme foi mergulhado em corante negro de amido, onde permaneceu por cinco minutos. Depois foi imerso em ácido acético a 5% durante cinco minutos para descoloração. Após secagem em estufa, passou por nova fase de descoloração com banhos sucessivos de ácido acético a 5%, seguidos de nova secagem a 60°C. Obteve-se o eletroforetograma, pela migração das frações protéicas pelo gel de agarose (albumina, α , β e γ -globulinas). Finalmente, as leituras densitométricas em densitômetro³ forneceram os valores relativos e absolutos de cada fração protéica.

A análise estatística dos dados foi realizada de acordo com o programa SigmaStat for Windows Version 1.0⁴. Os resultados foram tabulados e

submetidos à análise de variância, seguida do teste Student-Newman-Keuls ($P < 0,05$) para a comparação entre as médias dos grupos. O coeficiente de correlação de Pearson ($P < 0,05$) foi utilizado para testar as seguintes correlações: (1) peso do neonato com seus valores eritroleucométricos do SCU e da jugular, (2) tempo de vida intra-uterina com os valores eritroleucométricos do SCU e da jugular de neonatos, (3) valores eritroleucométricos da mãe com aqueles do sangue da jugular do neonato (4) valores eritroleucométricos da mãe com aqueles do SCU dos neonatos (Snedecor e Cochran, 1987).

RESULTADOS

As médias obtidas para as características eritro e leucométricas são apresentadas nas Tab. 1 e 2, respectivamente, e as médias seroprotéicas na Tab. 3.

Foi observada ausência de basófilos e de eosinófilos no sangue da jugular (E1) e do cordão umbilical (E2) de neonatos eqüinos. A média obtida para as contagens absolutas de basófilos e eosinófilos nas mães foi $0,22 \pm 0,12$ e $0,58 \pm 0,14$, respectivamente, ($P < 0,05$) dos valores de E1 e E2. Nos esfregaços sangüíneos de E1 e E2 verificaram-se anisocitose e policromasia.

O peso médio obtido para neonatos eqüinos foi de $54,00 \pm 9,65$ kg e o tempo médio de vida intra-uterina foi de $326,50 \pm 6,86$ dias. O quociente N:L encontrado para neonatos eqüinos, foi de $2,24 \pm 0,55$ e as correlações testadas não apresentaram significância ($P > 0,05$).

DISCUSSÃO

A média da contagem global de hemácias, no sangue da jugular de eqüinos neonatos (E1), estava abaixo da considerada fisiológica para potros ao nascimento por Harvey (1990). Deve-se ressaltar que esse autor utilizou potros das raças Quarto de Milha e Puro-Sangue Inglês para estabelecer a faixa de normalidade de parâmetros eritroleucométricos e neste estudo, utilizaram-se potros eqüinos da raça Brasileiro de Hipismo. A média obtida para a contagem global de hemácias no sangue da jugular de eqüinos neonatos foi mais elevada que a obtida do sangue da jugular das mães (E3), semelhante às observações de Harvey et al. (1984; 1987).

¹ Beckman Coulter - Fullerton, EUA.

² Labtest- Sistema de Diagnósticos Ltda. - Belo Horizonte, Brasil.

³ CELM - Cia. Equipadora de Laboratórios Modernos - Barueri, Brasil.

Estudo eritroleucométrico e proteinograma...

Tabela 1. Médias e desvios-padrão (DP) da contagem global de hemácias, concentração de hemoglobina, volume globular, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) no sangue da jugular (E1) e do cordão umbilical (E2) de neonatos eqüinos e no sangue de suas respectivas mães (E3)

Grupo	Cont. global de hemácias (x 10 ⁶ /μl)		Conc. de hemoglobina (G/DL)		Volume globular (%)		VCM (fl)		HCM (pg)		CHCM (g/dl)	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
E1	9,13	1,18	13,7	1,70	37,3	6,27	40,6	2,28	15,0	0,58	37,0	2,23
	A		2A		A		7A		4A		0A	
E2	9,7	1,08	14,6	1,40	39,6	5,76	40,5	1,87	15,0	0,71	37,2	2,67
	A		5A		3A		0A		7A		3A	
E3	7,58	0,88	11,6	1,03	35,3	2,76	46,7	2,63	15,3	1,03	32,8	1,06
	B		2B		5A		8B		8A		3B	

Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si (P<0,05)

Tabela 2. Médias e desvios-padrão (DP) das contagens globais de leucócitos, neutrófilos bastonetes, neutrófilos segmentados, linfócitos e monócitos no sangue da jugular (E1) e do cordão umbilical (E2) de neonatos eqüinos e no sangue de suas respectivas mães (E3)

Grupo	Cont. global de leucócitos (x 10 ³ /μl)		Neutrófilos bastonetes (x 10 ³ /μl)		Neutrófilos segmentados (x 10 ³ /μl)		Linfócitos (x 10 ³ /μl)		Monócitos (x 10 ³ /μl)	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
E1	4,93A	1,42	0,02A	0,04	3,25A	0,91	1,58A	0,72	0,02A	0,03
E2	5,40A	1,20	0,02A	0,03	3,99A	1,03	1,39A	0,42	0,00A	0,00
E3	14,25B	3,11	0,08A	0,13	9,54B	2,67	3,73B	1,11	0,09A	0,16

Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si (P<0,05)

Tabela 3. Médias e desvios-padrão (DP) da proteína total, albumina sérica, alfa globulinas, beta globulinas e gama globulinas, no sangue da jugular (E1) e do cordão umbilical (E2) de neonatos eqüinos e no sangue de suas respectivas mães (E3)

Grupo	Proteína total (g/dl)		Albumina sérica (g/dl)		α-globulina (g/dl)		β-globulina (g/dl)		γ-globulina (g/dl)	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
E1	4,50A	0,39	2,65A	0,20	0,73A	0,21	1,12A	0,23	0,00A	0,00
E2	4,37A	0,38	2,81A	0,48	0,65A	0,21	1,10A	0,20	0,00A	0,00
E3	7,75B	0,84	2,65A	0,22	1,77B	1,23	1,95B	0,88	1,20B	0,50

Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si (P<0,05)

No SCU eqüino (E2), os valores médios obtidos para contagem global de hemácias situaram-se na faixa de normalidade reportada para potros ao nascimento (Harvey et al., 1984; 1987; Harvey, 1990; Allen et al., 1998). Neste experimento, a média da contagem global de hemácias do SCU foi mais alta que a obtida no sangue da jugular das parturientes. Achado semelhante foi relatado por Pranke et al. (2001), em humanos, cujo número de hemácias revelou-se maior no SCU

do que naquele obtido a partir da braquiocéfálica de adultos. Essa contagem global de hemácias mais alta no sangue da jugular e do cordão umbilical eqüino podem ser atribuídas ao fato de as colheitas de sangue terem sido realizadas imediatamente após o nascimento, momento em que o potro ainda apresenta número elevado de eritrócitos, uma característica natural da vida intra-uterina (Medeiros et al., 1971). Alguns minutos após o nascimento ocorre hemólise fisiológica e o número de hemácias diminui.

⁴Jandel Corporation - San Rafael, EUA.

A média da concentração de hemoglobina no sangue da jugular de equinos neonatos é comparável àquelas relatadas por Jeffcott et al. (1982) e por Harvey (1990). A concentração de hemoglobina do sangue da jugular de equinos neonatos foi mais elevada que a do sangue da jugular das mães, semelhante ao reportado por Jeffcott et al. (1982) e Harvey (1990). A concentração de hemoglobina do SCU foi mais alta que a do sangue da jugular das mães, confirmando as observações feitas em humanos por Chaisiripoomkere et al. (1999).

Com relação ao volume globular, o sangue da jugular e o do cordão umbilical de neonatos equinos apresentaram médias ligeiramente mais baixas que as citadas para potros ao nascimento por Jeffcott et al. (1982) e Harvey (1990). Segundo Jeffcott et al. (1982), o volume globular nos potros ao nascimento é similar ao de equinos adultos e isto foi confirmado no sangue da jugular e do cordão umbilical de equinos neonatos, deste experimento.

Tais assertivas não são válidas para humanos, já que o volume globular obtido no SCU humano suplanta aquele obtido no sangue da veia braquiocefálica de adultos (Chaisiripoomkere et al., 1999).

Harvey (1990) refere-se a valores de VCM, em potros, ao nascimento, similares aos encontrados em adultos, uma vez que, ao nascimento, os eritroblastos e reticulócitos estão ausentes no sangue periférico (Allen et al., 1998). No entanto, neste ensaio, o VCM no sangue da jugular e do cordão umbilical de equinos neonatos foi mais baixo que o obtido no sangue de suas mães. Estes resultados diferem dos relatados em humanos por Chaisiripoomkere et al. (1999), Silber et al. (2000) e Pranke et al. (2001), que se referem a VCM no SCU humano mais alto que aquele encontrado do sangue da veia braquiocefálica de humanos adultos, devido à presença de eritroblastos e reticulócitos no SCU.

Harvey (1990) e Allen et al. (1998) descreveram anisocitose como um achado freqüente no sangue de neonatos equinos, fato que também foi verificado neste ensaio, tanto nas preparações citoscópicas do sangue do cordão umbilical quanto nas da jugular de neonatos.

As médias obtidas para contagens globais de leucócitos no sangue do cordão umbilical e da jugular de neonatos equinos revelaram-se menores que as observadas por Harvey (1990), em neonatos equinos, após a ingestão de colostro, provavelmente devido ao fato de que neste experimento a coleta foi realizada imediatamente após o nascimento, mas assemelharam-se aos valores reportados por Lassen e Swardson (1995). A contagem média de células leucocitárias nos grupos E1 e E2 foram mais baixas que aquelas obtidas no sangue da jugular de suas mães, conforme Harvey (1990) e Lassen e Swardson (1995) reportaram, ou seja, a quantidade de leucócitos em equinos ao nascimento é menor que em adultos.

Os leucócitos basofílicos estavam ausentes no sangue da jugular e do cordão umbilical de equinos neonatos, semelhantemente aos achados de Medeiros et al. (1971), Jain (1986) e Harvey (1990). Para esses autores, freqüentemente tais células estão ausentes no sangue circulante de potros ao nascimento, o que pode ser atribuído a uma degranulação precoce das células basofílicas ou a um estímulo do córtex em resposta a uma situação de estresse, no caso, o nascimento (Medeiros et al., 1971).

Leucócitos eosinofílicos não foram observados no sangue jugular e umbilical de neonatos equinos e, segundo Medeiros et al. (1971), os eosinófilos só aparecem no sangue circulante de equinos neonatos aos sete dias de idade.

Os valores de neutrófilos segmentados no SCU e no sangue circulante equino foram mais baixos que no sangue da jugular de suas mães (E3), semelhantemente às observações de Harvey (1990) e Chavatte et al. (1991).

No sangue da jugular das mães os neutrófilos segmentados estavam aumentados, o que é indicativo de mobilização do *pool* marginal de neutrófilos segmentados em direção ao *pool* circulante, em resposta a situações de estresse, neste caso, o parto.

As contagens absolutas de linfócitos no sangue da jugular e no umbilical de neonatos equinos acompanharam os valores fisiológicos para células linfocitárias em potros ao nascimento (Jeffcott et al., 1982; Jain, 1986; Harvey, 1990). Essas contagens foram acima de 1000

linfócitos/ μ l, uma possível indicação de maturidade dos potros (Harvey, 1990). Verificaram-se tanto no sangue jugular quanto no SCU de neonatos médias de linfócitos mais baixas que aquela apresentada por suas mães, semelhantemente ao relatado por Jeffcott et al. (1982), Harvey (1990) e Lassen e Swardson (1995).

A razão N:L encontrada para os neonatos equinos foi ligeiramente mais baixa que a descrita para neonatos a termo por Chavatte et al. (1991), entretanto situou-se dentro da faixa de normalidade para neonatos a termo, reportada por Allen et al. (1998).

As concentrações de proteína sérica total, nos grupos E1 e E2 estavam dentro dos limites de variação propostos por Harvey et al. (1984; 1987), mas estavam mais baixas que as encontradas nas mães, o que também foi verificado pelo mesmo autor. Isto se deve, principalmente, à ausência de gamaglobulinas no sangue de potros ao nascimento, ou seja, antes da ingestão do colostro (LeBlanc, 1990; Jainudeen e Hafez, 1995). A ausência de gamaglobulinas no sangue da jugular e do cordão umbilical de equinos encontra ressonância nos relatos de LeBlanc (1990).

CONCLUSÕES

O sangue do cordão umbilical e o da jugular de equinos neonatos são semelhantes e ambos podem ser utilizados para avaliação do quadro hematológico e seroprotéico desses animais. O sangue do cordão umbilical e o da jugular de equinos neonatos apresentam balanço eritroleucométrico e seroprotéico diferente daquele encontrado no sangue de equinos adultos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEN, L.A.; MYERS, S.L.; SEARCY, G.P. et al. Hematology of equine fetuses with comparisons to their dams. *Vet. Clin. Pathol.*, v.27, p.93-100, 1998.
- BROXMEYER, H.E.; KURTZBERG, J.; GLUCKMAN, E. et al. Umbilical cord hematopoietic stem and repopulating cells in human clinical transplantation. *Blood Cells*, v.17, p.313-329, 1991.
- CHAISIRIPOOMKERE, W.; JOOTAR, S.; UNGKANONT, A. et al. Study of hematopoietic progenitor cells, hematological values and lymphocyte subsets in cord blood: application for cord blood transplantation. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public. Health*, v.30, p.781-785, 1999.
- CHAVATTE, P.; BROWN, G.; OUSEY, J.C. et al. Studies of bone marrow and leukocyte counts in peripheral blood in fetal and newborn foals. *J. Rep. Fertil.*, v.44, suppl., p.603-608, 1991.
- HARVEY, J.W.; ASQUITH, R.L.; McNULTY, P.K. et al. Haematology of foals up to one year old. *Equine Vet. J.*, v.16, p.347-352, 1984.
- HARVEY, J.W.; ASQUITH, R.L.; SUSSMAN, W.A. et al. Serum ferritin, serum iron and erythrocyte values in foals. *Am. J. Vet. Res.*, v.48, p.1348-1353, 1987.
- HARVEY, J.W. Normal hematologic values. In: KOTERBA, A.M.; DRUMMOND, W.H.; KOSCH, P.C. (Eds). *Equine clinical neonatology*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1990. p.561-570.
- JAIN, N.C. *Schalm's veterinary hematology*. 4.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1986. 1221p.
- JAINUDEEN, M.R.; HAFEZ, E.S.E. Gestação, fisiologia pré-natal e parto. In: HAFEZ, E.S.E. (Ed). *Reprodução animal*. São Paulo: Manole, 1995. p.217-240.
- JEFFCOTT, L.B.; ROSSDALE, P.D.; LEADON, D.P. Haematological changes in the neonatal period of normal and induced premature foals. *J. Rep. Fertil.* v.32, suppl., p.537-544, 1982
- LASSEN, E.D.; SWARDSON, C.J. Hematology and hemostasis in the horse: normal functions and common abnormalities. *Vet. Clin. N. Am.: Equine Pract.*, v.11, p.351-389, 1995.
- LeBLANC, M.M. Immunologic considerations. In: KOTERBA, A.M.; DRUMMOND, W.H.; KOSCH, P.C. (Eds). *Equine clinical neonatology*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1990. p.275-294.
- MEDEIROS, L.O.; FERRI, S.; BARCELOS, S.R. et al. Hematologic standards for healthy newborn Thoroughbred foals. *Biol. Neonate*, v.17, p.351-360, 1971.
- PRANKE, P.; FAILACE, R.R.; ALLEBRANDT, W.F. et al. Hematologic and immunophenotypic characterization of human umbilical cord blood. *Acta Haematol.*, v. 105, p.71-76, 2001.
- SILBER, M.; SEGRE, C.A.M.; GOLDENBERG, S. et al. Determinação dos valores hematológicos e das concentrações séricas de ferro e ferritina em sangue de cordão umbilical de recém-nascidos de termo e pré-termo no Hospital Israelita Albert Einstein de São Paulo. *Acta Cir. Bras.*, v.15, p.220-228, 2000.
- SNEDECOR, G.W.; COCHRAN, W.G. *Statistical methods*. Ames: Iowa State University, 1987. 593p.
- VILMER, E.; STERKERS, G.; RAHIMY, C. et al. HLA-mismatched cord blood transplantation in a patient with advanced leukemia. *Transplantation*, v.53, p.1155-1157, 1992.
- WAGNER, J.E.; BROXMEYER, H.E.; BYRD, R.L. et al. Transplantation of umbilical cord blood after myeloblastic therapy: analysis of engraftment. *Blood*, v.79, p.1874-1881, 1992.