

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
ESCOLA DE VETERINÁRIA  
COLEGIADO DOS CURSOS DE PÓS-GRADUAÇÃO**

**ALTERAÇÕES GÁSTRICAS EM POTROS SUBMETIDOS  
AO ESTRESSE DO DESMAME**

**BARBARA GOLOUBEFF**

**BELO HORIZONTE  
ESCOLA DE VETERINÁRIA DA UFMG  
2006**



**BARBARA GOLOUBEFF**

**ALTERAÇÕES GÁSTRICAS EM POTROS SUBMETIDOS AO  
ESTRESSE DO DESMAME**

Tese apresentada à Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciência Animal. Área: Patologia e Ciências Clínicas.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Maristela Silveira Palhares

**BELO HORIZONTE**

**ESCOLA DE VETERINÁRIA DA UFMG**

**2006**

G627a Goloubeff, Barbara, 1958-  
Alterações gástricas em potros submetidos ao estresse do desmame / Barbara Goloubeff. - 2006.  
195 p. : il.

Orientadora: Maristela Silveira Palhares

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária  
Inclui bibliografia

1. Equino – Doenças – Teses. 2. Endoscopia veterinária – Teses. 3. Estomago – Inflamação – Teses. 4. Metaplasia – Teses. 5. Urease – Testes – Teses. 6. Equino - Efeito do estresse - I. Palhares, Maristela Silveira. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. III. Título.

CDD – 636.108 96

Tese defendida e aprovada em 26 de junho de 2006, pela Comissão Examinadora:



---

Prof. Dra. Maristela Silveira Palhares  
Orientadora



---

Prof. Dr. Adolfo Firmino da Silva Neto



---

Prof. Dr. Cristiano Machado Gontijo



---

Prof. Dr. Ernane Fagundes do Nascimento



---

Prof. Dr. Guilherme Ribeiro Valle



---

Prof. Dra. Hannelore Fuchs



## DEDICATÓRIA

Aos meus pais, André e Elena, que com seu amor, têm compartilhado os meus sonhos, me dando forças para realizá-los, além de, nas horas difíceis, serem a luz que me guia e me dá paz.

*Apliquei meu espírito a um estudo atencioso e à sábia observação de tudo que se passa debaixo dos céus: Deus impôs aos homens esta ocupação ingrata. Vi tudo o que se faz debaixo do sol, e eis: tudo vaidade, e vento que passa. Porque no acúmulo de sabedoria, acumula-se tristeza, e que aumenta a ciência, aumenta a dor. (Ecles 1:13, 17-18).*

## EPÍGRAFE

### MONGOLIAN TESTAMENT

Don't call the sweet name  
Of my horse too hastily.  
Don't beat it on the head.  
Don't use the sweet color of my instrument  
For reasons that are not pure.  
And keep me in good memory.

*Music from Tuva*

"My treasures do not click together or glitter, they gleam in the sun and  
neigh in the night."

*Bedouin Proverb*

*Aos cavalos que passaram pelo meu caminho: pacientes, terapeutas,  
professores...*

*Paciência*

*Luta*

*Doçura*

*Valentia*

*Resignação*

*Coragem...*

*Quanto me ensinaram!*

Nós devemos delinear nossos padrões a partir do mundo natural. Nós devemos honrar, com a humildade dos sábios, os liames deste mundo natural e o mistério que se encontra por trás daqueles, admitindo que existe algo, na ordem das coisas, que evidentemente excede toda a nossa competência.

Vaclav Havel, ex-presidente da Tchecoslováquia.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradecer, reconhecer o benefício recebido... E há muito que agradecer!

Este trabalho foi realizado com potros de propriedade da Polícia Militar de Minas Gerais, à qual fico grata, em particular ao Regimento de Cavalaria Alferes Tiradentes, instituição bicentenária a qual tive a honra de servir.

Agradeço ao Sr. Ten. Cel. Jéferson Rodney de Oliveira e ao Sr. Maj. QOR Hudson Gonçalves, meus Comandante e Sub Comandante, respectivamente, durante o ano de 2004, que me ofereceram todo o apoio e a logística necessários para conduzir o experimento, sem os quais este trabalho teria sido impossível.

Fica o meu reconhecimento ao Cap. Enes, responsável pela condução desta logística, ao 1º Ten. Pantoja, da Promoção Social e a toda a equipe da Seção de Transporte, que durante meses a fio conduziu estes passageiros valiosos.

Reconheço o grande trabalho que o Cap. Maximiliano Augusto Xavier teve, ao acolher os potros e suas mães, no 3º Esquadrão. Foram responsáveis pela sua higienização, manejo e alimentação os Cb. Bento, Pascoal e Rubens, que lidaram diariamente com estes “adolescentes revoltados”.

Às minhas colegas de trabalho, Denise Nogueira Jones e Laura Maria Godinho Santos, que se desdobraram para me auxiliar.

Tenho uma imensa gratidão aos meus companheiros de trabalho: 2º Sgt. Manoel dos Santos, nosso técnico em Patologia Clínica, que executou inúmeros hemogramas; 2º Sgt. Ronaldo José Padilha, 3º Sgt. Anderson Carlos Teixeira, Cb. Realino Aparecida Viana e Cb. Adilson Paula de Souza que de forma dedicada me auxiliaram em todas as endoscopias, num trabalho gentil e muito pesado.

Agradeço à direção do Hospital Militar, na pessoa do Cap. QOR Dr. Walton Albuquerque, àquela época Chefe do Serviço de Endoscopia do HPM, pelo estágio tão proveitoso e ao Corpo Médico e de Enfermagem deste Departamento, pela recepção e ensinamentos transmitidos.

Ao Sr. Rubens Miranda, técnico em Histologia, que preparou artisticamente, mais de um milhar de laminas, em variadas colorações e atendeu pacientemente às minhas solicitações.

Aos colegas Ubiratan Pereira de Melo e Cíntia Ferreira, sempre presentes.

À colega Letícia Bicalho, que conduziu as endoscopias e cuidou deste instrumento tão delicado.

Ao colega e amigo Sílvio Leite Monteiro da Silva que auxiliou em todas as coletas de sangue e processou os soros para posterior análise. Também é o responsável pela digitalização das imagens gravadas, etapa essencial deste trabalho.

O colega Adolfo Firmino da Silva Neto é um irmão de coração. Ofereceu uma técnica imunológica, inédita em clínica veterinária, processou as análises e orientou o estudo desta área, nova para mim, da moderna Imunologia.

Não tenho palavras para agradecer à Dr<sup>a</sup> Hannelore Fuchs, por me recordar quem eu sou.

Ao Prof. Néelson Monteiro Vaz, pela permissão de uso do Laboratório de Imunologia e Bioquímica – ICB.

Ao Prof. Wagner Tafuri Filho, que muito gentilmente, cedeu o uso do microscópio para captura de imagens do Laboratório de Morfometria Digital do Departamento de Patologia Geral do ICB-UFMG.

À Prof<sup>a</sup>. Ana Margarida M. F. Nogueira, pela recepção e esclarecimentos prestados.

Ao Prof. Iran Borges, pela elaboração da parte estatística.

Ao Prof. Ernane Fagundes do Nascimento, pela oportunidade de convivência, resolução de dúvidas e paciente leitura das lâminas.

Ao Prof. Cristiano Machado Gontijo, pela amizade, colaboração e por descortinar o universo da Rede Idiotípica.

Ao Prof. Jair Ferreira do Nascimento pela confiança e bondade em ser meu orientador constante, todos estes anos.

A Prof<sup>a</sup>. Maristela Silveira Palhares, pela convivência e lições de caráter e amizade. Outrossim, pela oportunidade oferecida e pela orientação firme, mas sensível, meu muito obrigada.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	20
<b>ABSTRACT</b> .....	21
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	22
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	23
2.1 O estômago eqüino.....	23
2.1.1 Aspectos anatomopatológicos.....	23
2.1.2 Secreção hormonal, enzimática e citoprotetora.....	24
2.1.3 Mecanismos de defesa da mucosa gástrica.....	26
2.1.4 As mucossustâncias.....	27
2.2 Síndrome da úlcera gástrica eqüina.....	29
2.2.1 Prevalência.....	29
2.2.2 Fatores predisponentes.....	31
2.2.3 Patofisiologia das úlceras pépticas.....	35
2.2.4 Diagnóstico.....	36
2.2.4.1 Aspectos clínicos.....	36
2.2.4.2 Alterações hematológicas e bioquímicas do sangue.....	37
2.2.4.3 Gastroduodenoscopia.....	42
2.2.4.4 Avaliação macroscópica.....	45
2.2.4.5 Avaliação histológica.....	47
2.2.5 <i>Helicobacter pylori</i> .....	49
2.2.6 Gastrite auto-imune.....	55
2.3 Síndrome do estresse.....	57
2.3.1 Estresse do desmame.....	61
2.3.2 Transtorno por estresse pós-traumático.....	63
2.4 Expressão sistêmica da gastrite.....	66
2.4.1 Análise de Componentes Principais.....	68
2.5 Considerações bioéticas.....	69
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	70
3.1 Animais.....	70
3.2 Grupos experimentais.....	71
3.3 Gastrosopia.....	71
3.3.1 Colheita dos fragmentos de estômago.....	73
3.3.2 Teste de urease em agar gel.....	74
3.4 Exames laboratoriais.....	74
3.4.1 O hemograma.....	74
3.4.2 Dosagem de gastrina.....	75
3.4.3 Definição dos perfis de reatividade imunológica.....	75
3.4.3.1 Preparação dos extratos antigênicos – Tecidos autólogos e culturas bacterianas heterólogas.....	75
3.4.3.2 Eletroforese.....	76

3.4.3.3	Westernblot.....	76
3.4.3.4	Incubação das amostras de soro.....	77
3.4.3.5	Incubação das membranas com anticorpos secundários.....	77
3.4.3.6	Revelação das reatividades.....	77
3.4.3.7	Processamento da Imagem.....	77
3.4.3.8	Programa de tratamento de curvas.....	78
3.5	Análise estatística.....	79
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>79</b>
4.1	Avaliação clínica.....	79
4.1.1	Achados clínicos.....	79
4.1.2	Achados endoscópicos.....	81
4.1.3	Teste de urease.....	88
4.2	Avaliação laboratorial.....	91
4.2.1	Análise hematológica.....	91
4.2.2	Avaliação sérica de gastrina.....	99
4.3	Avaliação histológica.....	101
4.3.1	Hematoxilina-eosina.....	101
4.3.2	Colorações para bactérias espiraladas.....	108
4.3.3	Demonstração da presença de mucinas.....	108
4.3.3.1	PAS e Alcian blue.....	108
4.3.3.2	PAS- AB (pH 2,5).....	108
4.4	Avaliação imunológica.....	125
4.5	Avaliação do estresse.....	131
4.6	Considerações bioéticas.....	135
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>135</b>
<b>6</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>136</b>
<b>7</b>	<b>ANEXOS.....</b>	<b>157</b>
7.1	Reagentes e soluções utilizadas no Westernblot.....	159
7.2	Colorações.....	161
7.3	Tabelas estatísticas.....	165
7.4	Cronogramas.....	193

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Fluxograma do experimento.....	72
Figura 2-	Distribuição do peso dos potros durante o período de endoscopias.....	80
Figura 3-	Distribuição dos achados endoscópicos, de acordo com o grupo e endoscopia, em potros submetidos ao estresse do desmame.....	83
Figura 4-	Aspecto das lesões observadas à endoscopia. A) Grau 1: hiperemia de mucosas e hiperqueratose do epitélio não glandular; B) Grau 2: discretas erosões ao longo da <i>margo plicatus</i> ; C) Grau 2: erosões na região da cárdia; D) Graus 2 e 3 ao longo da <i>margo plicatus</i> ; notar coágulo aderido à lesão; E) Grau 4: úlcera profunda ao longo da <i>margo plicatus</i> ; F) Úlcera em forma de estrela, indicando processo de cicatrização.....	85
Figura 5-	Distribuição dos resultados positivos do teste de urease por região estomacal e tempo, em potros submetidos ao estresse do desmame.....	90
Figura 6-	Distribuição dos resultados positivos do teste de urease por endoscopia e região estomacal, em potros submetidos ao estresse do desmame.....	90
Figura 7-	Valores de leucócitos totais ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ ) e valores absolutos de segmentados neutrófilos e bastonetes, de acordo com o dia da colheita, em potros submetidos ao estresse do desmame.....	97
Figura 8-	Presença de hemoparasitas, de acordo com o grupo e o dia da colheita, em potros submetidos ao estresse do desmame.....	98
Figura 9-	Valores médios para gastrina sérica, por grupo, em potros em potros submetidos ao estresse do desmame.....	100
Figura 10-	Valores individuais, para gastrina sérica por grupo, em escala logarítmica, em potros submetidos ao estresse do desmame.....	100
Figura 11-	Distribuição do escore do grau de atrofia, de acordo com os achados histológicos, na mucosa de acordo com a região do estômago, o grupo e a data da endoscopia, em potros submetidos ao estresse do desmame. ....	103
Figura 12-	Microfotografia da região do corpo com moderado infiltrado inflamatório constituído de mononucleares linfócitos, à terceira endoscopia, HE, 400x.....	105
Figura 13-	Microfotografia da região de transição da <i>margo plicatus</i> com moderado infiltrado inflamatório constituído de mononucleares linfócitos, à terceira endoscopia, HE, 400x.....	105
Figura 14-	Distribuição do escore do grau de inflamação, de acordo com os achados histológicos, na mucosa gástrica de potros	

	ao desmame, de acordo com a região do estômago, o grupo e a data da endoscopia.....	107
Figura 15-	Distribuição do escore do grau de atividade, de acordo com os achados histológicos, na mucosa gástrica de potros ao desmame, de acordo com a região do estômago, o grupo e a data da endoscopia.....	107
Figura 16-	Microfotografia da região da <i>margo plicatus</i> à primeira endoscopia, PAS, 40x.....	109
Figura 17-	Microfotografia da região da <i>margo plicatus</i> , à segunda endoscopia, AB (pH2,5), 10x.....	109
Figura 18-	Microfotografia da região da <i>margo plicatus</i> com metaplasia intestinal na porção glandular (seta), à terceira endoscopia, PAS-AB (pH2,5), 40x.....	111
Figura 19-	Microfotografia da região do corpo com metaplasia intestinal moderada, à segunda endoscopia, PAS-AB (pH2,5), 400x.....	111
Figura 20-	Microfotografia da região do corpo com metaplasia intestinal severa, à segunda endoscopia, PAS-AB (pH2,5), 400x.....	113
Figura 21-	Microfotografia da região do corpo com metaplasia discreta, evidenciando células caliciformes (seta), à primeira endoscopia, PAS-AB (pH2,5), 1000x.....	113
Figura 22-	Distribuição do escore do grau de metaplasia, de acordo com os achados histológicos, na mucosa gástrica de potros ao desmame, de acordo com a região do estômago, o grupo e a data da endoscopia.....	116
Figura 23-	Microfotografia da região fúndica saudável com coloração alcianofílica no <i>stratum corneum</i> ( <b>SC</b> ) (seta) e <i>stratum basale</i> periodato positivo ( <b>SB</b> ) PAS-AB (pH2,5), 400x. ....	117
Figura 24-	Microfotografia da região fúndica com coloração alcianofílica no <i>stratum basale</i> ( <b>SB</b> ) e <i>stratum corneum</i> periodato positivo ( <b>SC</b> ), PAS-AB (pH2,5), 100x.....	117
Figura 25-	Microfotografia da região da <i>margo plicatus</i> com coloração alcianofílica na porção aglandular ( <b>AG</b> ), à terceira endoscopia, PAS-AB (pH2,5), 40x.....	119
Figura 26-	Microfotografia da região da <i>margo plicatus</i> com coloração alcianofílica na porção aglandular, à terceira endoscopia, PAS-AB (pH2,5), 400x.....	119
Figura 27-	Valores médios do escore obtido à histologia, de acordo com o grupo e a endoscopia.....	124
Figura 28-	Comportamento dos soros eqüinos confrontando Fator 01 pelo Fator 02, frente ao extrato de <i>E. coli</i> .....	126
Figura 29-	Comportamento dos soros eqüinos agrupados, com seus respectivos desvios, frente ao extrato de <i>E. coli</i> .....	126
Figura 30-	Comparação dos soros eqüinos confrontando Fator 01 pelo	

	Fator 02 frente ao extrato de proteínas hepáticas.....	127
Figura 31-	Comportamento dos soros eqüinos agrupados, com seus respectivos desvios, frente ao extrato hepático.....	127
Figura 32-	Comparação dos grupos clínicos com relação ao escore endoscópico.....	128
Figura 33-	Comparação dos grupos clínicos frente aos escores endoscópicos.....	128
Figura 34-	Comparação dos escores endoscópicos frente aos escores do Fator 01 do PCA.....	129

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Valores normais dos parâmetros eritrocíticos e de plaquetas em potros de 4 a 9 meses de idade.....	40
Tabela 2-	Valores normais de contagem de leucócitos em potros de 4 a 9 meses de idade.....	40
Tabela 3-	Helicobactérias gástricas e sua associação com as doenças produzidas.....	52
Tabela 4-	Distribuição dos achados endoscópicos (%-n), de acordo com o escore da lesão, por endoscopia e por grupo, em potros submetidos ao estresse do desmame.....	82
Tabela 5-	Valores médios ( $\pm$ desvio padrão) do escore obtido pela observação gástrica macroscópica, de acordo com a endoscopia e o grupo, em potros submetidos ao estresse do desmame.....	84
Tabela 6-	Tempo de viragem para urease, para fragmentos do antro e do corpo, de acordo com o grupo e a endoscopia, em potros submetidos ao estresse do desmame.....	89
Tabela 7-	Tempo de viragem para urease, para fragmentos do antro e do corpo, independente do grupo e da endoscopia, em potros submetidos ao estresse do desmame.....	89
Tabela 8-	Valores médios ( $\pm$ desvio padrão) para hemácias, hemoglobina, volume corpuscular médio, hemoglobina corpuscular média e concentração de hemoglobina corpuscular média, de acordo com o grupo e o dia da colheita, em potros submetidos ao estresse do desmame.....	92
Tabela 9-	Valores médios ( $\pm$ desvio padrão) para valores absolutos de leucócitos, segmentados, bastonetes, linfócitos, linfócitos atípicos, eosinófilos, monócitos, basófilos e plaquetas, de acordo com o grupo e dia de colheita em potros submetidos ao estresse do desmame.....	95
Tabela 10-	Valores relativos (%) e absolutos para basófilos, eosinófilos, monócitos, relação neutrófilo:linfócito e bastonetes:neutrófilos e plaquetas, de acordo com o grupo e o dia da colheita, para potros submetidos ao estresse do desmame.....	96
Tabela 11-	Presença de hemoparasitas, por grupo, de acordo com o dia da colheita do seangue, em potros submetidos ao estresse do desmame.....	97
Tabela 12-	Presença de hemoparasitas em potros, por grupo, de acordo com o grupo, em potros submetidos ao estresse do desmame.....	98
Tabela 13-	Valores médios ( $\pm$ desvio padrão) para gastrina sérica (pg/ml) de acordo com o grupo e a data do exame, em	

	potros submetidos ao estresse do desmame.....	99
Tabela 14-	Escore histológico médio ( $\pm$ desvio padrão) para atrofia, inflamação, grau de atividade e metaplasia, de acordo com a região do estômago, a endoscopia e o grupo, em potros submetidos ao estresse do desmame.....	122
Tabela 15-	Escores médios das biópsias, de acordo com os achados histológicos, na mucosa gástrica de potros ao desmame, de acordo com a região do estômago, o grupo e a data da endoscopia.....	123
Tabela 16-	Sinais clínicos psico-físicos de potros do Grupo 1 submetidos ao estresse do desmame.....	133
Tabela 17-	Sinais clínicos psico-físicos de potros do Grupo 2 submetidos ao estresse do desmame.....	134
Tabela 18	Média total, mínimo e máximo para valores relativos (%) e absolutos para leucócitos, bastonetes, neutrófilos segmentados, linfócitos atípicos, linfócitos, para potros submetidos ao estresse do desmame.....	165
Tabela 19-	Média total, mínimo e máximo para valores relativos (%) e absolutos para basófilos, eosinófilos, monócitos e relação neutrófilo:linfócito e bastonetes:neutrófilos, para potros submetidos ao estresse do desmame.....	166
Tabela 20-	Comparação estatística para valores totais de leucócitos.....	167
Tabela 21-	Comparação estatística para valores absolutos de bastonetes.....	167
Tabela 22-	Comparação estatística para valores relativos de bastonetes	168
Tabela 23-	Comparação estatística para valores absolutos de neutrófilos segmentados.....	168
Tabela 24-	Comparação estatística para valores relativos de neutrófilos segmentados.....	169
Tabela 25-	Comparação estatística para valores absolutos de linfócitos atípicos.....	169
Tabela 26-	Comparação estatística para valores relativos de linfócitos atípicos.....	169
Tabela 27-	Comparação estatística para valores relativos de linfócitos	169
Tabela 28-	Comparação estatística para valores absolutos de linfócitos	170
Tabela 29-	Comparação estatística para valores absolutos de basófilos	170
Tabela 30-	Comparação estatística para valores relativos de basófilos	171
Tabela 31-	Comparação estatística para valores absolutos de eosinófilos.....	171
Tabela 32-	Comparação estatística para valores relativos de eosinófilos.....	172
Tabela 33-	Comparação estatística para valores absolutos de monócitos.....	172
Tabela 34-	Comparação estatística para valores relativos de monócitos	172
Tabela 35-	Comparação estatística para relação neutrófilos:linfócitos	173

Tabela 36-	Comparação estatística para relação bastonetes:neutrófilos	173
Tabela 37-	Comparação estatística para valores de gastrina.....	174
Tabela 38-	Comparação dos escores macroscópicos, endoscopia 1, entre grupos.....	174
Tabela 39-	Comparação dos escores macroscópicos, endoscopia 2, entre grupos.....	174
Tabela 40-	Comparação dos escores macroscópicos, endoscopia 3, entre grupos.....	175
Tabela 41-	Comparação dos escores macroscópicos, entre endoscopias, Grupo 1.....	175
Tabela 42-	Comparação dos escores macroscópicos, entre endoscopias, Grupo 2.....	175
Tabela 43-	Teste da urease -valores totais após 96 horas, endoscopia 1 Margo.....	175
Tabela 44-	Teste da urease -valores totais após 96 horas, endoscopia 2 Margo.....	175
Tabela 45-	Teste da urease -valores totais após 96 horas, endoscopia 3, Margo.....	176
Tabela 46-	Teste da urease -valores totais após 96 horas, endoscopia 1, Antro.....	176
Tabela 47-	Teste da urease -valores totais após 96 horas, endoscopia 2, Antro.....	176
Tabela 48-	Teste da urease -valores totais após 96 horas, endoscopia 3, Antro.....	176
Tabela 49-	Teste da urease -valores totais após 96 horas, grupo 1, Margo.....	176
Tabela 50-	Teste da urease -valores totais após 96 horas, grupo 1, Antro.....	177
Tabela 51-	Teste da urease -valores totais após 96 horas, grupo 2, Margo.....	177
Tabela 52-	Teste da urease -valores totais após 96 horas, grupo 2, Antro.....	177
Tabela 53-	Comparação dos escores histológicos - atividade, endoscopia 1, entre grupos: Corpo.....	177
Tabela 54-	Comparação dos escores histológicos – inflamação, endoscopia 1, entre grupos: Corpo.....	177
Tabela 55-	Comparação dos escores histológicos – atrofia, endoscopia 1, entre grupos: Corpo.....	178
Tabela 56-	Comparação dos escores histológicos – metaplasia, endoscopia 1, entre grupos: Corpo.....	178
Tabela 57-	Comparação dos escores histológicos - atividade, endoscopia 1, entre grupos: Antro.....	178
Tabela 58-	Comparação dos escores histológicos – inflamação, endoscopia 1, entre grupos: Antro.....	178
Tabela 59-	Comparação dos escores histológicos – atrofia, endoscopia	

	1, entre grupos: Antro.....	178
Tabela 60-	Comparação dos escores histológicos – metaplasia, endoscopia 2, entre grupos: Antro.....	179
Tabela 61-	Comparação dos escores histológicos - atividade, endoscopia 1, entre grupos: <i>Margo plicatus</i> .....	179
Tabela 62-	Comparação dos escores histológicos – inflamação, endoscopia 1, entre grupos: <i>Margo plicatus</i> .....	179
Tabela 63-	Comparação dos escores histológicos – atrofia, endoscopia 1, entre grupos: <i>Margo plicatus</i> .....	179
Tabela 64-	Comparação dos escores histológicos – metaplasia, endoscopia 1, entre grupos: <i>Margo plicatus</i> .....	179
Tabela 65-	Comparação dos escores histológicos - atividade, endoscopia 2, entre grupos: Corpo.....	180
Tabela 66-	Comparação dos escores histológicos – inflamação, endoscopia 2, entre grupos: Corpo.....	180
Tabela 67-	Comparação dos escores histológicos – atrofia, endoscopia 2, entre grupos: Corpo.....	180
Tabela 68-	Comparação dos escores histológicos – metaplasia, endoscopia 2, entre grupos: Corpo.....	180
Tabela 69-	Comparação dos escores histológicos - atividade, endoscopia 2, entre grupos: Antro.....	180
Tabela 70-	Comparação dos escores histológicos – inflamação, endoscopia 2, entre grupos: Antro.....	181
Tabela 71-	Comparação dos escores histológicos – atrofia, endoscopia 2, entre grupos: Antro.....	181
Tabela 72-	Comparação dos escores histológicos – metaplasia, endoscopia 2, entre grupos: Antro.....	181
Tabela 73-	Comparação dos escores histológicos - atividade, endoscopia 2, entre grupos: <i>Margo plicatus</i> .....	181
Tabela 74-	Comparação dos escores histológicos – inflamação, endoscopia 2, entre grupos: <i>Margo plicatus</i> .....	181
Tabela 75-	Comparação dos escores histológicos – atrofia, endoscopia 2, entre grupos: <i>Margo plicatus</i> .....	182
Tabela 76-	Comparação dos escores histológicos – metaplasia, endoscopia 2, entre grupos: <i>Margo plicatus</i> .....	182
Tabela 77-	Comparação dos escores histológicos - atividade, endoscopia 3, entre grupos: Corpo.....	182
Tabela 78-	Comparação dos escores histológicos – inflamação, endoscopia 3, entre grupos: Corpo.....	182
Tabela 79-	Comparação dos escores histológicos – atrofia, endoscopia 3, entre grupos: Corpo.....	182
Tabela 80-	Comparação dos escores histológicos – metaplasia, endoscopia 3, entre grupos: Corpo.....	183
Tabela 81-	Comparação dos escores histológicos - atividade, endoscopia 3, entre grupos: Antro.....	183

Tabela 82-	Comparação dos escores histológicos – inflamação, endoscopia 3, entre grupos: Antro.....	183
Tabela 83-	Comparação dos escores histológicos – atrofia, endoscopia 3, entre grupos: Antro.....	183
Tabela 84-	Comparação dos escores histológicos – metaplasia, endoscopia 3, entre grupos: Antro.....	183
Tabela 85-	Comparação dos escores histológicos - atividade, endoscopia 3, entre grupos: <i>Margo plicatus</i> .....	184
Tabela 86-	Comparação dos escores histológicos – inflamação, endoscopia 3, entre grupos: <i>Margo plicatus</i> .....	184
Tabela 87-	Comparação dos escores histológicos – atrofia, endoscopia 3, entre grupos: <i>Margo plicatus</i> .....	184
Tabela 88-	Comparação dos escores histológicos – metaplasia, endoscopia 3, entre grupos: <i>Margo plicatus</i> .....	184
Tabela 89-	Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 1, Endoscopia 1: Atividade.....	185
Tabela 90-	Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 1, Endoscopia 1: Inflamação.....	185
Tabela 91-	Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 1, Endoscopia 1: Atrofia.....	185
Tabela 92-	Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 1, Endoscopia 1: Metaplasia.....	185
Tabela 93-	Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 2, Endoscopia 1: Atividade.....	186
Tabela 94-	Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 2, Endoscopia 1: Inflamação.....	186
Tabela 95-	Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 2, Endoscopia 1: Atrofia.....	186
Tabela 96-	Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 2, Endoscopia 1: Metaplasia.....	186
Tabela 97-	Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 1, Endoscopia 2: Atividade.....	187
Tabela 98-	Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 1, Endoscopia 2: Inflamação.....	187
Tabela 99-	Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 1, Endoscopia 2: Atrofia.....	187
Tabela 100-	Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 1, Endoscopia 2: Metaplasia.....	187
Tabela 101-	Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 2, Endoscopia 2: Atividade.....	188
Tabela 102-	Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 2, Endoscopia 2: Inflamação.....	188
Tabela 103-	Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 2, Endoscopia 2: Atrofia.....	188
Tabela 104-	Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo	

	2, Endoscopia 2: Metaplasia.....	188
Tabela 105-	Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 1, Endoscopia 3: Atividade.....	189
Tabela 106-	Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 1, Endoscopia 3: Inflamação.....	189
Tabela 107-	Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 1, Endoscopia 3: Atrofia.....	189
Tabela 108-	Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 1, Endoscopia 3: Metaplasia.....	189
Tabela 109-	Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 2, Endoscopia 3: Atividade.....	190
Tabela 110-	Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 2, Endoscopia 3: Inflamação.....	190
Tabela 111-	Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 2, Endoscopia 3: Atrofia.....	190
Tabela 112-	Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 2, Endoscopia 3: Metaplasia.....	190
Tabela 113-	Comparação dos escores histológicos total, endoscopia 1, entre grupos: Corpo.....	191
Tabela 114-	Comparação dos escores histológicos total, endoscopia 1, entre grupos: Antro.....	191
Tabela 115-	Comparação dos escores histológicos total, endoscopia 1, entre grupos: <i>Margo plicatus</i> .....	191
Tabela 116-	Comparação dos escores histológicos total, endoscopia 2, entre grupos: Corpo.....	191
Tabela 117-	Comparação dos escores histológicos total, endoscopia 2, entre grupos: Antro.....	191
Tabela 118-	Comparação dos escores histológicos total, endoscopia 1, entre grupos: <i>Margo plicatus</i> .....	192
Tabela 119-	Comparação dos escores histológicos total, endoscopia 3, entre grupos: Corpo.....	192
Tabela 120-	Comparação dos escores histológicos total, endoscopia 3, entre grupos: Antro.....	192
Tabela 121-	Comparação dos escores histológicos total, endoscopia 3, entre grupos: <i>Margo plicatus</i> .....	192

## RESUMO

Foram avaliados 20 potros mestiços da raça Brasileiro de Hipismo com 160 dias de idade, criados na região de Florestal, estado de Minas Gerais, Brasil, nascidos entre dezembro de 2003 e março de 2004. O grupo era homogêneo, constituído de 12 fêmeas e oito machos, sendo 85% deles produtos do mesmo garanhão. Os potros foram submetidos ao desmame artificial abrupto, com o objetivo de conferir a instalação de estresse por privação materna, perturbação emocional, incerteza e deslocamento social. Com base nas observações clínicas e endoscópicas foi possível identificar dois grupos distintos: potros que já tinham desenvolvido alterações gástricas antes do desmame e um outro grupo que somente desenvolveu gastrite ao desmame. Foi realizada avaliação do estado imunológico pela realização de um westernblot semiquantitativo para determinação de concentrações por uma dupla identificação de anticorpos específicos para a cadeia  $\gamma$  das imunoglobulinas eqüinas. O ensaio foi efetuado com antígenos heterólogos (extrato de *E. coli*) e autoantígenos eqüinos (extrato hepático). O ensaio feito com extrato de fígado permitiu discriminar entre os perfis de reatividade de IgG nos três momentos em que as amostras foram obtidas: antes, depois e tardiamente ao desmame, surgindo uma diferença extremamente clara e significativa ( $P= 0,038$ /Mann Whitney). A ausência de reação frente ao painel de antígenos heterólogos autoriza o diagnóstico de um processo autoimune, nominalmente a gastrite autoimune. Foi observada anemia discreta em alguns animais, com severa elevação de plaquetas e leucocitose fisiológica por estresse, com elevação significativa de gastrina, após o desmame. Endoscopias realizadas seqüencialmente, duas semanas antes do desmame, 24 horas após e duas semanas após este, permitiram visualizar erosões e gastrite um dia após o desmame, constatados de forma clara, e acompanhados de bruxismo, halitose e perda de peso. À histologia, foi encontrada uma gastrite linfocitária, principalmente nas regiões de corpo e *margo plicatus*, sendo menos freqüente na região do antro. Ainda, a coloração histoquímica evidenciou metaplasia intestinal, possivelmente como resquício de expressão fenotípica de mucinas ácidas fetais, eventualmente agravada pelo quadro de gastrite. Resultados positivos para atividade de urease, mesmo que tardios, sugerem a presença de microorganismos do tipo *Helicobacter*, colonizando de forma precoce o estômago eqüino. Fatores emocionais, de forma indiscutível, têm importante relação com as crises ulcerosas do estômago, sugerindo que os eqüinos têm inscrito no seu etograma emoções muito fortes e evidentes. O desmame é um período crítico na vida do eqüino e o desmame abrupto é fonte de intensa ansiedade e perda de homeostasia imunológica, traduzido na forma de um estresse pós-traumático, de memória duradoura, gerador de diversos distúrbios físicos e comportamentais. A gastrite e suas complicações são claramente multifatoriais e todos os esforços devem ser empreendidos para minimizar os efeitos do estresse pelo desmame artificial.

**Palavras-chave:** eqüino, potro, estômago, westernblot, endoscopia, gastrite, úlcera gástrica, gastrite autoimune, gastrite linfocitária, metaplasia intestinal, mucinas gástricas, teste de urease, estresse do desmame, estresse pós-traumático.

## ABSTRACT

*This study evaluated 20 160-day-old foals half-bred Brasileiro de Hipismo, raised in Florestal area, state of Minas Gerais, Brazil, born between December 2003 and March 2004. The group was homogeneous, constituted of 12 fillies and 8 colts, 85% of them originated from the same stallion. The foals were submitted to abrupt artificial weaning, aiming to produce stress by maternal deprivation, emotional disturbance, uncertainty, and adjustment problems. Based on clinical and endoscopic observation, it was possible to identify two distinct groups: foals that have already had developed gastric changes prior to weaning, and another group that has developed gastritis upon weaning. It was performed an immunologic assessment using a semi quantitative Westernblot to determine concentrations through a double identification of specific antibodies for the  $\gamma$  chain of equine immunoglobulins. The experiment was performed with heterologous antigens (*E. coli* extract) and equine auto antigens (hepatic extract). The experiment with hepatic extract allowed the differentiation between the IgG reaction profile on the three moments when samples were collected: before, subsequent, and after the weaning, suggesting an extremely clear and significant difference ( $P=0,038$ /Mann Whitney). The absence of reaction to the heterologous antigen panel provides the diagnosis of an autoimmune process, namely the autoimmune gastritis. It was observed a mild anemia in some animals, with severe platelet rise and physiologic leukocytosis caused by stress, with a significant increase of gastrin after weaning. Endoscopies were performed sequentially, two weeks before, 24 hours later, and two weeks after weaning, allowing a clearly verifiable visualization of erosions and gastritis one day after weaning, and followed by bruxism, halitosis and weight-loss. Upon histology, lymphocytic gastritis was discovered, especially at the corpus and margo plicatus areas, being less frequent at the antrum area. Yet, the histochemical coloration revealed intestinal metaplasia, possibly as a residue of phenotypic expression of acid fetal mucines, eventually aggravated by gastritis condition. Positive results to urease activity, even if delayed, suggest the presence of *Helicobacter*-like microorganisms, precociously colonizing the equine stomach. Emotional factors have an indisputable relationship with the ulcerous stomach episodes, suggesting that the equines have very strong and distinct emotions engraved in their ethogram. Weaning is a critical period in equines lives, and abrupt weaning is a source of severe anxiety and loss of immunologic homeostasis, evidenced as post-traumatic stress, of permanent duration, causing several physical and behavioral disorders. Gastritis and its complications are clearly caused by multiple factors, and all efforts must be taken to minimize stress consequences of artificial weaning.*

**Keywords:** *equine, foal, stomach, Westernblot, endoscopy, gastritis, gastric ulcer, autoimmune gastritis, lymphocytic gastritis, intestinal metaplasia, gastric mucines, urease test, weaning stress, post-traumatic stress.*

## INTRODUÇÃO

Décadas de observação permitem verificar o crescimento exponencial da gastrite, de uma enfermidade estranha ao cavalo a uma doença grave, eventualmente fatal, por hemorragia e conseqüente choque hemorrágico.

Na área de saúde da Polícia Militar de Minas Gerais, é possível contabilizar os prejuízos financeiros diretos, com a medicação, e os indiretos, como os períodos sem prestação de serviço e morte precoce do semovente de patrulha, devido à enfermidade crônica.

O estresse a que os potros são submetidos ao desmame, pode ser claramente observado. Incomoda ver mãe e filho separados, de forma brusca e artificial, quando se quebram laços, que, na natureza, não seriam partidos, de forma a ocasionar o que, na literatura humana, denomina-se estresse pós-traumático.

Sabe-se que o cavalo, dentre os mamíferos domésticos, é um dos mais evoluídos em termos cognitivos. O estresse pós-traumático perdura pela vida inteira, cria comportamentos estereotipados (Heleski et al., 2002; McGee e Smith, 2004) e possivelmente a gastrite, que oscila entre subclínica a superaguda, dependendo do nível de estresse infligido e da capacidade do animal em se adaptar.

Este enfoque colide com a visão altamente competitiva da indústria eqüina, que vê, no desmame precoce, diversas vantagens: por um lado, a égua, novamente gestante, é desonerada do aleitamento, o que gera economia de arraçoamento; por outro lado, potros

alimentados com alimento sólido irão se desenvolver melhor e mais rápido, de forma a atingir melhores preços no mercado.

Lewis (2000), informa em tom despreocupado que “*o desmame mais precoce parece não ter nenhum efeito prejudicial no potro, e a maioria dos potros cresce melhor quando o seu interesse se muda de conseguir outro gole de leite para comer a sua própria mistura de grãos e forragem*”. Entretanto, em outra passagem, este mesmo autor informa que o estresse do desmame diminui o consumo de alimento e a taxa de crescimento, e aumenta a susceptibilidade a doenças infecciosas, úlceras gástricas e ao risco de uma lesão auto induzida, podendo levar semanas para o potro se recuperar e começar a render bem (*sic*).

Entretanto, esses impactos negativos podem ser minimizados e até eliminados, criando-se uma abordagem humanitária: o potro desmamado de forma suave, no tempo ditado pelo seu cronograma natural, poderá se alimentar melhor, crescer harmonicamente, ganhar peso e estatura, ter homeostasia imunológica, melhor equilíbrio emocional e melhor aceitação do ser humano (Kiley-Worthington, 1987; Malinowski et al., 1990).

Esse enfoque proposto é fruto de uma postura ética atual, baseada no raciocínio ecológico-moral – a biofilia (Lourenço e Kahn, 2000): “*Uma forma de raciocínio que alarga o escopo do domínio tradicional da moralidade. Num futuro bastante próximo, a ética da conservação (i.e., proteger e respeitar o ambiente) será facilmente mencionada ao lado das éticas mais*

*tradicionais da justiça, do cuidado e da virtude.*”

Wilson (1984), autor do conceito original de biofilia, afirmou categoricamente: “*Eu discuto [...] que nós somos humanos em boa parte devido à forma particular com que nos afiliamos com os outros organismos. Eles são a matriz na qual a mente humana se origina e está permanentemente enraizada, e eles oferecem o desafio e a liberdade buscados de forma inata.*”

O presente trabalho procurou verificar o aparecimento de gastrite devido ao estresse da deprivação materna e detectar diferenças de perfil imunológico durante o desmame de potros, correlacionando-nas com as alterações gástricas. Da mesma forma, visou-se mensurar o nível sérico de gastrina.

Avaliou-se as lesões macroscópicas da mucosa gástrica por meio de endoscopia em potros submetidos ao estresse e sua correlação com a sintomatologia clínica. Foram avaliadas as características histológicas dos quadros de gastrite de potros ao desmame e a presença de eventuais microorganismos na sua estrutura.

Estudou-se evidências de infecção bacteriana que poderiam estar relacionadas com o quadro clínico de gastrite em potros, baseando-se na atividade de urease.

Essencialmente, manteve-se sempre em mente a máxima hipocrática *primo non nocere*, ou, pelo menos, não agravar o mal que já estava sendo feito pelo desmame inevitável, buscando transformar esse fato em algo útil, que,

se espera, possa contribuir para o bem-estar dos cavalos.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 O ESTÔMAGO EQUINO

#### 2.1.1 Aspectos anatomopatológicos

O estômago do cavalo, diferentemente de outras espécies, contém uma ampla porção aglandular, recoberta por epitélio escamoso estratificado. A porção glandular é similar à de outras espécies, sendo composta de regiões cardíaca, fúndica e pilórica. A junção entre a porção glandular e aglandular é a *margo plicatus*<sup>1</sup>. Essa anatomia única provavelmente tem um papel importante na prevalência de úlceras, sendo o local, na altura da curvatura menor, o sítio mais comum das ulcerações. É também a área da mucosa aglandular mais exposta ao ácido gástrico (MacAllister et al., 1997).

O epitélio escamoso estratificado e o epitélio glandular do estômago equino diferem estrutural e funcionalmente, com substancial desenvolvimento na fase final da gestação e no período neonatal. Nas duas primeiras semanas pós-parto, o epitélio escamoso sofre uma vigorosa hiperplasia, e a mucosa glandular torna-se totalmente diferenciada (Murray, 1991b, 1999).

Jubb et al. (1995) e Merrit (1999) descreveram a relação entre a histologia e a secreção dos hormônios gástricos no cavalo. O estômago equino é uma câmara com quatro regiões histológicas

<sup>1</sup> Do latim *margo*, *-inis* s. f. e m.: 1) margem, beira, extremidade; 2) fronteira e *plicatum*, v. tr. dobrar, redobrar (Faria, 1962).

distintas. A metade superior é recoberta por uma mucosa escamosa, sem estruturas glandulares, com funções digestivas ou de proteção mucosa, sem processos de transporte ativo.

Argenzio (1999) comparou a porção da mucosa escamosa de eqüinos com a dos suínos. Nestes, a porção esofágica continua para dentro do estômago, em um raio de 4-5cm, nos adultos, e a porção da cárdia<sup>2</sup> ocupa a primeira metade do órgão. Histologicamente, em ambas espécies, a porção escamosa consiste de quatro zonas. Nos potros, a espessura aumenta com a idade e contínua exposição ácida. A camada externa é cornificada em diversas camadas celulares e recebe o nome de *stratum corneum*. Essas células não contêm núcleo ou estes são picnóticos. Abaixo, se posiciona o *stratum transitionale*, com células grandes de núcleos redondos. Abaixo, encontra-se o *stratum spinosum*, com células menores e alongadas. Por último, existe uma camada de 2-4 células: o *stratum basale* ou *stratum germinativum*. São células cuboidais, com grandes núcleos posicionados centralmente. Não há células produtoras de muco.

A função das células vivas, abaixo do *stratum corneum* é o transporte ativo de sódio ( $\text{Na}^+$ ), pela ação da Sódio-Potássio-ATPase. Esse processo estabelece um potencial elétrico e um fluxo de corrente sobre o tecido. Nos ruminantes, essa mucosa é fina, e a difusão do sódio através do lúmen é elevada com grande absorção de água e sais no rúmen. Nos eqüinos e suínos a mucosa estratificada apresenta uma

resistência elétrica de 2-3.000 $\Omega/\text{cm}^2$ , maior do que da mucosa da cárdia, podendo ser interpretado como uma função de barreira.

Murray e Mahaffey (1993) estudaram a mucosa escamosa em fetos, potros a termo e em potros até 35 dias de idade. Observaram que o epitélio torna-se mais espesso com o avançar da idade, com aumento inclusive do número de camadas celulares e espessamento das camadas queratinizadas, com um maior pronunciamento das papilas. A descamação das camadas queratinizadas foi observada em potros a partir de dois dias de idade.

Oliveira et al. (1994) observaram na lâmina epitelial da mucosa do esôfago, em condições normais, ausência de polimorfonucleares neutrófilos e, só excepcionalmente, encontram-se eosinófilos, em número total de um ou dois em vários cortes.

### 2.1.2 Secreção hormonal, enzimática e citoprotetora

Os potros são capazes de produzir intensa acidificação gástrica, de forma mais precoce que o homem e outros animais (Murray, 1999), não sendo observada nenhuma variação nictemeral (Sanchez et al., 1998). Especula-se que, nesse momento, ocorra um lapso de tempo em que o efeito neutralizante do alimento sólido ainda não esteja ocorrendo, predispondo às erosões subclínicas da mucosa (Baker, 1992; Murray, 1999).

A secreção gástrica hidroclicórica é estimulada por histamina, gastrina e acetilcolina, secundariamente ao estímulo vagal. A histamina é o estímulo mais potente para a secreção

---

<sup>2</sup> Do grego *kardia*, s. f. Abertura superior do estômago (Bueno, 1976).

do ácido gástrico (Kitchen et al., 1998), e a gastrina parece ser responsável tanto pela secreção gástrica ácida quanto pelas secreções pancreáticas. Secreções pancreáticas são ricas em água, sódio e bicarbonato, e o refluxo espontâneo duodenogástrico ocorre de forma intermitente, neutralizando a acidez excessiva (Murray, 1999; Kitchen et al., 2000). A secreção ácida é inibida pela somatostatina, liberada pelas células fúndicas e antrais D, em mecanismo de retroação (Murray, 1991b). A pepsina, outro importante fator de ulceração, é liberada como pepsinogênio pelas glândulas gástricas. Para ter ação proteolítica, precisa ser ativado enzimaticamente à pepsina, o que ocorre em pH menor que 3. Sua secreção é estimulada por acetilcolina, secretina e peptídeo liberador de gastrina. Este peptídeo, por sua vez, possui um efeito geral de estimular a secreção gástrica e os peptídeos cerebrais, os quais mediam a secreção gástrica através do nervo vago. (Murray, 1991b).

Murray e Luba (1993) determinaram ser a concentração de gastrina plasmática em potros similar à dos adultos, em um momento onde a alimentação sólida ainda não é um componente relevante da dieta. Esse fato pode contribuir para a alta prevalência de lesões gástricas na mucosa escamosa. Ao mesmo tempo, foi detectada elevação da somatostatina plasmática, do nascimento ao quarto dia, paralela ao desenvolvimento da secreção gástrica ácida, possivelmente como um mecanismo regulatório. Altas concentrações de cortisol, triiodotiramina e tiroxina no período pós-natal imediato podem estar associadas ao desenvolvimento fisiológico no sistema gastrointestinal, assim como em outros órgãos.

A *margo plicatus* é uma região de borda denteada, irregular, levemente elevada. Adjacente a esta, numa estreita faixa, apresenta-se a região glandular da cárdia. Muito pouco se sabe a respeito dessa região nos eqüinos. Nos suínos, é responsável pela secreção de bicarbonato. Células imunorreativas à somatostatina são encontradas nessa região. A somatostatina modula a ação da gastrina liberada pelas células G e, portanto, auxilia no controle do pH (Argenzio, 1999).

A região fúndica recobre a porção inferior do estômago ao longo da curvatura maior e seus lados, unindo-se a região cárdica. É o sítio de localização das clássicas glândulas gástricas: as células parietais - secretoras de HCl; as zimógenas (principais) – secretoras de pepsinogênio para o lúmen gástrico; as células semelhantes à enterocromafina - secretoras de histamina. Essas, por sua vez, estimulam as células parietais a secretar ácido clorídrico, mediante estímulo dos receptores de H<sub>2</sub> na superfície celular. As células semelhantes à enterocromafina, no eqüino, também secretam serotonina, agente envolvido no fluxo sanguíneo do estômago e secreção (Jubb et al., 1995; Merrit, 1999). As células parietais eqüinas são altamente responsivas à estimulação pela histamina e pouco responsivas à estimulação pela pentagastrina ou carbacol (Campbell-Thompson, 1994).

As células proliferativas (são dois clones) estão em constante multiplicação. Um desses clones migra para o ápice da papila e se diferencia em células superficiais de revestimento. Sua superfície é recoberta de fosfolípidios - barreira surfactante

hidrófoba. O outro clone migra para a base glandular, dando origem às células mucosas, parietais e principais. As células mucosas do colo produzem o muco protetor (composto em 95% de água, mais bicarbonato e glicoproteína). O bicarbonato fica mais próximo da barreira surfactante e a glicoproteína em contato com o lúmen gástrico. A glicoproteína, em concentração adequada, forma um gel viscoso, que, acrescido das células descamadas do epitélio de revestimento, forma a barreira mucosa. Desta forma, próximo ao epitélio o pH é cerca de 7. As células mucosas do colo, assim como as faveolares e as células superficiais mucosas, coram positivo pelo Periodic Acid Schiff (PAS) (Tolentino e Faifer, 1994).

As glândulas pilóricas recobrem a porção antral sendo a maior fonte de gastrina, produzida pelas células G. Essa região é também rica em células D, secretoras de somatostatina e células semelhantes à enterocromafina (EC) produtoras de serotonina. Essas células estão envolvidas na modulação endógena do pH gástrico (Merritt, 1999) e são muito numerosas na região glandular pilórica do cavalo, e raras na região duodenal, estando absolutamente ausentes nas porções mais distais do intestino (Ceccarelli et al., 1995).

### **2.1.3 Mecanismos de defesa da mucosa gástrica**

O estômago atua como um reservatório biológico e inicia a digestão dos alimentos (Lloyd, 1993). Para tanto, possui uma barreira protetora da mucosa contra os efeitos lesivos do

ácido, pepsina, sais biliares, enzimas digestivas e forças mecânicas de cisão.

O muco é secretado por células epiteliais especiais, na forma de solúvel viscoso, ou como um gel insolúvel de glicoproteína. Esse gel forma uma cobertura contínua, de espessura variada, que se adere firmemente à mucosa, sendo essencial para protegê-la contra a ação do ácido e da pepsina. A forma solúvel se mistura com o ácido gástrico e conteúdo intestinal. Esse muco possui ação lubrificante, prevenindo a mucosa de lesões mecânicas (Campbell-Thompson e Merritt, 1988; Geor e Papich, 1990).

A secreção do bicarbonato é estimulada pelo ácido luminal, mediada pela prostaglandina endógena ( $I_2$  e  $E_2$ ) e fatores humorais. O muco aderente engloba o bicarbonato e forma uma interface alcalina entre a superfície da mucosa e o lume. Essa secreção do bicarbonato forma um gradiente que mantém o pH praticamente ao nível fisiológico, próximo à superfície da mucosa (Geor e Papich, 1990).

A rica vasculatura da mucosa gástrica e duodenal fornece oxigênio e nutrientes necessários para manter a barreira de muco-bicarbonato e suportar a rápida substituição das células epiteliais. Um fluxo sanguíneo alto também é necessário para remover os íons de hidrogênio que se difundiram para a mucosa (Geor e Papich, 1990).

O óxido nítrico é o elemento regulador do fluxo sanguíneo. O aumento ou inibição de sua síntese produz efeitos substanciais em modelos experimentais, acelerando ou retardando a cicatrização (Murray, 1999).

Os órgãos do trato gastrointestinal, notadamente o estômago, secretam altas concentrações de prostaglandinas. As prostaglandinas tipo E, especialmente a prostaglandina E<sub>2</sub>, estão integralmente envolvidas na proteção da mucosa. Esse efeito citoprotetor atua contra a necrose profunda e promove uma reposição celular mais rápida, evitando a lesão macroscópica. Supostamente, as prostaglandinas modulam a secreção ácida, bloqueando o aumento do monofosfato de adenosina cíclica, estimulado pela histamina (Geor e Papich, 1990).

Fatores do crescimento epidermal são encontrados na secreção das glândulas salivares e promovem síntese de DNA e proliferação das células da mucosa gástrica. Possuem um papel na síntese das prostaglandinas e inibem a secreção parietal do ácido hidrocloreto (Andrews et al., 1999).

A mucosa gástrica possui uma considerável capacidade de reparar a superfície lesada. Esta reposição é obtida pela migração de células epiteliais de áreas adjacentes à lesão e ocorre sem proliferação celular. Minutos após a lesão, células estão migrando das criptas para a superfície luminal, para a reposição celular. Essa reposição é a principal defesa da mucosa, principalmente contra as forças de cisão (Geor e Papich, 1990).

#### 2.1.4 Mucosubstâncias

Em uma primeira tentativa de classificar as mucosubstâncias encontradas nos tecidos, Spicer et al. (1965) propuseram denominar de *sialomucina* as substâncias periodato reativas, com

digestibilidade enzimática e basofilia. Mucosubstâncias sulfatadas com proteína básica seriam denominadas de *sulfomucinas*. Os *mucopolissacarídes* são periodato inertes e, finalmente, as substâncias ricas em glicocálices, originárias da frutose ou galactose, seriam as mucosubstâncias neutras.

Essa classificação é baseada na afinidade apresentada aos processos histoquímicos de coloração (Spicer et al., 1978; Shah e Shrikhande, 1989), sendo periodato-reativas (substâncias ricas em hexose); variados graus de ligação ao ferro dializado (glicoconjugados ácidos) ou alta afinidade por ferro-diamina (sulfomucinas).

Atualmente, mucinas são definidas como proteínas que têm uma alta substituição por oligossacarídeos na sua composição (65-90%) e contêm, na sua porção protéica, repetições enriquecidas com resíduos de serina, treonina e prolina (Lagow et al., 1999; Bullimore et al., 2001). A cadeia lateral do carboidrato pode ser ácida ou neutra. As mucinas se distinguem das outras glicoproteínas e proteoglicanos, por serem de peso molecular muito alto (0,5-30 milhões de Daltons). Sua glicosilação é do tipo O-ligação, e a região glicosilada apresenta repetições de seqüências pépticas, cujo número varia entre os indivíduos.

Essas mucinas são expressas na superfície apical do epitélio mucoso, e supõem-se terem importante papel como barreira molecular da mucosa, como lubrificante, ação antiproteolítica, proteção contra ataques microbianos e inibição da função imune da célula, entre outras (Lagow et al., 1999).

A nomenclatura adotada para os genes de mucina é MUC, seguida do número que reflete a ordem em que foi descoberta (Lagow et al., 1999), havendo doze mucinas descritas nos seres humanos (Bullimore et al., 2001; Silva et al., 2002). No estômago humano são expressas: a MUC5AC, no epitélio gástrico, rica em cisteína e que forma ligações dissulfídicas; a MUC6, rica em treonina, serina e prolina, nas células do colo do fundo, glândulas submucosas do antro e cárdia; e a MUC8, a principal mucina das vias aéreas. As mucinas são sintetizadas no retículo endoplasmático rugoso, são transportadas até o aparelho de Golgi, onde ocorre a reação de O-glicosilação, com adições iniciais do núcleo do resíduo de *N*-acetilgalactosamina.

A infecção por *Helicobacter pylori* está associada com uma expressão aberrante dos genes da mucina gástrica em humanos (Byrd et al., 1997). Em suínos, ulceração gástrica experimental na junção gastroesofágica foi precedida de alterações na glicosilação e volume de muco (Mall et al., 1997).

O processo de gelatinização do muco, essencial para as suas funções fisiológicas, é comparável aos outros sistemas de gel polímeros existentes. Foram identificadas porções de mucina não gelificada dentro da rede do gel e interações relaxantes para a manutenção da sua matriz gelatinosa (Taylor et al., 2003).

A secreção gástrica mucosa foi estudada em fetos humanos, ocorrendo, no segundo terço de gestação, uma secreção mista neutra/ácida. As mucinas neutras aumentam no terço final da gestação, quando as mucinas ácidas

passam a representar apenas 20% da secreção, assim como no período neonatal. Esta composição inicial é muito semelhante à da metaplasia intestinal descrita nas lesões inflamatórias ou tumorais do estômago humano (Stauffer et al., 1990).

Masuda et al. (1977) estudaram glicopeptídeos gástricos de onze espécies animais, para determinar o conteúdo de carboidratos restantes após proteólise. Este glicopeptídeo, corado tanto por Alcian Blue quanto Periodic Acid Schiff, estava ausente ou apenas esparsamente presente na mucosa gástrica humana, de logomorfos e de eqüinos, assim como nos três primeiros estômagos de bovinos, cabras e ovelhas. Já no porco, cão, gato, porquinho da índia, rato e abomaso dos ruminantes, foi encontrado em grande quantidade.

Células colunares, mucina-positivas ácidas, foram observadas na junção gastro-esofágica e esôfago distal em pacientes humanos com esôfago de Barrett, cujo significado permanece desconhecido. O epitélio, de múltiplas camadas, apresenta características morfológicas, ultra-estruturais e citoquímicas, tanto de epitélio escamoso quanto colunar (Chen et al., 1999).

Estudos histoquímicos em potros de até 14 dias de idade demonstraram material corado PAS-positivo no espaço intercelular superficial do *stratum basale* da mucosa escamosa, que aparentemente aumenta com a idade, indicando a presença de mucosubstâncias (Murray e Mahaffey, 1993).

Bullimore et al. (2001) desenvolveram uma coloração imunohistoquímica com antígenos contra o MUC5AC humano e

descobriram que esse faz reação cruzada com o muco na porção glandular do estômago equino, sugerindo que o cavalo expressa um gen homólogo ao MUC5AC humano. Biópsias da região do corpo gástrico exibiram apenas mucinas neutras, enquanto na região da *margo plicatus* havia mucina ácida nas glândulas mucosas profundas. Na mucosa estratificada, havia muco apenas sobre a superfície epitelial, não havendo presença de glândulas. Os autores levantam a hipótese deste muco se originar da região glandular, apesar de pequenas quantidades poderem ser oriundas das mucinas nasais, respiratórias e salivares, via esôfago.

O grau de preservação do muco foi classificado como zero (0), se não havia muco na superfície; (1), se havia pequenas porções de muco superficial; (2), se menos de 50% da superfície estava recoberta por muco, e (3), se mais de 50% estava coberto por uma camada de muco (Bullimore et al., 2001).

## **2.2 SÍNDROME DA ÚLCERA GÁSTRICA EQUINA**

O reconhecimento da gastrite e das ulcerações gástricas foi um grande avanço na clínica de equinos na década de 1970. Assim como o termo “cólica” descreve uma apresentação clínica e encerra em si um grande número de desordens, a denominação da “síndrome da úlcera gástrica equina” traduz casos sintomáticos e assintomáticos, ulcerações focais ou multifocais, envolvendo a mucosa escamosa ou glandular do estômago, bem como a

gastrite, desordens do esvaziamento gástrico, duodenite, ulceração duodenal e as complicações resultantes destas desordens (Murray, 1997).

Em 1998, o EQUINE GASTRIC ULCER COUNCIL (Andrews et al., 1999), reclassificou todo o conhecimento adquirido até a presente data, passando a definir esta patologia como “*um conjunto de alterações da mucosa gastrintestinal e esofágica que levam à destruição de elementos celulares causando um defeito até o nível da lâmina própria*”. A esse conjunto denominou-se então de Síndrome da Úlcera Gástrica Equina.

### **2.2.1 Prevalência**

Alguns trabalhos determinaram a prevalência de lesões na mucosa gástrica glandular do cavalo à necropsia. Johnson et al. (1994) citado por MacAllister (1999) encontraram uma prevalência de 10% em um estudo de necropsia em 169 cavalos de corrida. Um estudo retrospectivo de 3.715 necropsias, feito na Suécia (Sandin et al., 2000) encontrou uma prevalência geral de 17% de ulcerações gástricas. Entretanto, a distribuição por raças demonstrou uma prevalência de 19% em animais PSI e Standardbred (trotadores), enquanto os cavalos de tração apresentavam apenas 7% (n=1.173).

Cavalos adultos têm um índice elevado de 66% à necropsia (Hammond, et al., 1986) e 81% em cavalos PSI de corrida em treinamento (Vatistas et al., 1994). Um estudo *post mortem* de 195 cavalos PSI em Hong Kong determinou uma

presença de 66% de ulcerações. Quando foram incluídos apenas os animais em treinamento, essa taxa se elevou para 80% (Johnson et al., 1994).

Erosões e ulcerações gástricas são comuns em eqüinos. Mais de 90% dos cavalos PSI adultos apresentam lesões ao exame endoscópico (Murray et al., 1988; MacAllister e Sangiah, 1993; Murray, 1992a, 1994) A presença de lesões gástricas pode estar associada a condições clínicas que contribuem para a redução do desempenho, perda de peso e outras doenças (Murray et al., 1988, Murray, 1992b).

Com a atual disponibilidade de endoscópios de comprimento suficientemente longo, permitindo visualizar o estômago de eqüinos, úlceras gástricas têm sido identificadas com relativa freqüência em potros (Traub-Dargatz et al., 1988; Becht e Byars, 1986, Murray et al., 1990b) e em cavalos adultos (Hammond et al., 1986; Murray et al., 1996).

Rabuffo et al. (2002), estudando prevalência de ulcerações gástricas em 224 eqüinos da raça Standardbred, verificaram que estas são comuns. A severidade foi maior em cavalos acima de três anos de idade do que nos de dois anos. Uma análise de regressão, com utilização de machos castrados como grupo comparativo revelou que a proporção de risco para ulceração gástrica era de 0,53 para fêmeas ( $P<0,001$ ) e de 0,73 para machos ( $P=0,019$ ), quando foram removidos os animais sem ulceração gástrica do estudo, sendo a análise controlada pela idade. O risco relativo de ulceração decresceu com a idade nas fêmeas e machos, porém aumentou com a idade

nos cavalos castrados. Resultado semelhante foi descrito anteriormente por Vatistas et al. (1999b), ao encontrarem uma porcentagem discretamente maior para machos castrados (94%) do que em potros (78%) e potras (82%) de sobreano. Entretanto, Sandin et al. (2000) encontraram um resultado inverso, com uma taxa de 18% em garanhões e de 10% em cavalos castrados, sendo 12% nas éguas ( $P<0,001$ ). A prevalência das úlceras diminuiu com a idade, independentemente do sexo.

Quando os estudos se referem a animais em treinamento, os índices aumentam chegando a uma prevalência superior a 90% para as lesões na mucosa gástrica de cavalos atletas adultos (Hammond et al., 1986; Murray, 1989a; 1992b; Murray et al., 1996). Além disso, Murray et al. (1996) observaram lesões com maior freqüência e severidade, em cavalos PSI de corrida, comparados àqueles utilizados para exercícios menos desgastantes.

Begg e O'Sullivan (2003), acompanhando 3.345 cavalos de corrida, encontraram uma prevalência de 86% de ulcerações na mucosa escamosa, sendo a *margo plicatus* o local mais comum. Houve uma correlação significativa ( $P<0,001$ ) entre a localização e a gravidade da lesão: a severidade das lesões na região pilórica era muito menor do que na mucosa escamosa. Já a ulceração duodenal é rara em cavalos adultos, graças à proteção oferecida pelas secreções pancreáticas (Kitchen et al., 1998).

As úlceras em potros ocorrem mais comumente na porção escamosa do estômago, cujo epitélio é similar ao

esôfago humano (Murray et al., 1988; Orsini, 2000), em uma faixa de 3cm de largura ao longo da *margo plicatus*, tanto na parede anterior quanto posterior do estômago (Johnson et al., 1994). Isso leva alguns autores a deduzirem que as ulcerações da mucosa escamosa no estômago equino sejam similares à esofagite humana (Collier e Stoneham, 1997). Murray et al. (1988) relatam uma prevalência em potros de 81% de frequência na porção aglandular do estômago, 32% na porção glandular, 22% no duodeno e 16% no esôfago.

O potro, mesmo na idade ao desmame, ainda não possui todo o aparato de homeostase do trato gastrointestinal presente no cavalo adulto (Murray, 1999), como a proteção oferecida pelas secreções pancreáticas (Kitchen et al., 1998). Também é observado em potros um retardo do esvaziamento gástrico. Este fenômeno sugere que a desmotilidade gástrica ou duodenal é a causa da ulceração gastroduodenal, permitindo um tempo mais prolongado de contato da mucosa com o ácido e a pepsina (Geor e Papich, 1990). Campbell-Thompson e Merritt (1988) acreditam que esse retardo possa ser devido a uma gastroenterite, de origem viral ou bacteriana ou secundária à ulceração.

Em potros neonatos, estressados por doenças, 40% deles apresentavam lesões na mucosa gástrica glandular (Furr et al., 1992). Os que apresentam obstrução do fluxo gástrico, associado à ulceração duodenal, também desenvolvem esofagite erosiva. Murray (1989) encontrou uma prevalência de 51% em 184 potros mediante endoscopia.

Estudos em potros também demonstraram uma alta prevalência de lesões da mucosa gástrica (Murray et al., 1990b), um fato que pode representar perdas econômicas significativas, uma vez que o comprometimento do trato gastrointestinal, nessa idade, pode impedir o pleno desenvolvimento do animal (Murray, 1992a). MacAllister (1999) alerta que a celeuma sobre o tratamento de úlceras gástricas em equinos aparentemente saudáveis, com síndrome ulcerativa gástrica, somente existe por razões econômicas, pois não é normal para nenhuma espécie apresentar tal patologia.

### 2.2.2 Fatores predisponentes

A causa básica da ulceração gástrica em cavalos não é conhecida. Um estudo comparativo das úlceras gastroesofageanas em humanos e equinos (Collier e Stoneham, 1997), mostrou, distintamente dos humanos, mais úlceras na mucosa escamosa adjacente à *margo plicatus*. Essa estrutura é similar ao esôfago humano e não à mucosa glandular, levando os autores a deduzirem que as ulcerações da mucosa escamosa no estômago equino sejam similares à esofagite humana. Úlceras iatrogênicas, produzidas por drogas antiinflamatórias não esteróides, tendem a se localizar na mucosa glandular.

Pagan (1998) considera as ulcerações gástricas equinas como uma doença produzida pelo homem, uma vez que essa patologia raramente é vista na natureza. Os cavalos evoluíram como herbívoros nômades, com o sistema

digestivo desenvolvido para consumo constante de alimento volumoso.

Os eqüinos são animais sociais de manada e evoluíram seus organograma ecológico e fisiologia durante milhões de anos, para se adaptar ao seu meio ambiente. Por meio de sua evolução dispõem grande parte do dia em pé e caminhando lentamente enquanto pastam. Quando este organograma ecológico do tempo não lhes é permitido, é possível que sua saúde geral fique comprometida (Heleski et al., 2002).

A dieta e o comportamento alimentar afetam a prevalência de úlceras gástricas nos cavalos. O pastejo está associado à incidência mais baixa, enquanto a alimentação com concentrados e períodos de jejum estão associados com taxas mais elevadas (Orsini, 2000), assim como com o aumento da concentração sérica de gastrina (Smyth et al., 1989).

Murray e Grady (2002) utilizaram um regime de jejum alimentar, por 24h, alternando com períodos de alimentação por 24h, durante seis dias, como um protocolo de indução de úlceras gástricas. Ao término do período, sete, de oito pôneis, desenvolveram úlcera gástrica.

Segundo Andrews et al. (1998), a alimentação com alfafa e grãos resulta em um pH mais elevado e diminuição da injúria péptica na mucosa escamosa quando comparada com alimentação de feno de gramínea. Os autores especulam que o alto teor de proteína e cálcio podem tamponar o HCl. Fatores que podem contribuir para a influência nutricional são o comportamento alimentar do cavalo (pastejo *versus*

alimentação parcelada), os constituintes naturais das gramíneas, o processo de fenação (fermentação) e alimentos processados e a resposta fisiológica individual aos diversos alimentos.

Um grupo de cavalos jovens, portadores de aerofagia, foi examinado endoscopicamente e constatou-se ulceração gástrica. Após divisão randômica, um grupo recebeu tratamento antiulceroso e foi observada uma significativa melhora da condição gástrica, assim como uma redução do comportamento estereotipado (Nicol e Davidson, 2002).

Murray e Eichorn (1996) sugerem o estabelecimento de um regime alimentar que promova uma alimentação relativamente contínua, já que o jejum produz ulceração gástrica de forma consistente.

Parece haver um efeito do exercício, independentemente da alimentação (Murray, 1992a; Orsini, 2000). A incidência de úlceras, durante treinamento, é alta, e o período de um mês de repouso é suficiente para a redução das lesões. Furr et al. (1994) detectaram níveis elevados de gastrina em cavalos em treinamento. Além disso, cavalos em treinamento respondem de forma menos favorável à terapia por antagonista de H<sub>2</sub> do que aqueles em repouso (Murray, 1992a).

Entretanto, Sandin et al. (1998) não comprovaram que a gastrina seja o hormônio que possa medir o estresse nos cavalos, pois sua elevação ocorre independente do tipo de alimento. Aparentemente, o volume de ingesta e a conseqüente distensão gástrica têm papel importante na liberação da gastrina.

Murray et al. (1996), realizando duas endoscopias com intervalo de três meses, demonstraram que a cura espontânea não é comum e que as lesões tenderam à agravação, quando os animais permaneciam em treinamento. Quando a intensidade do treinamento aumentava, a severidade das lesões também crescia.

Vatistas et al. (1999a) produziram ulceração gástrica de forma consistente e constante, trabalhando os cavalos em esteira, por 56 dias. Não foram administradas drogas antiinflamatórias não esteroidais (AINEs) nem períodos de jejum. Os autores sugerem que a ulceração gástrica se deve a uma combinação de desempenho, apetite e condições corporais. Além disso, os autores encontraram uma associação ( $P=0,0139$ ) entre a presença de ulcerações gástricas e diminuição do desempenho.

Hartmann e Frankeny (2003) trabalharam com 23 cavalos de esportes eqüestres e os avaliaram antes e após três dias consecutivos de competição, encontrando uma prevalência de úlceras de 17,4% antes e uma taxa de 56,5% após, o que revela uma evolução de 47,4%, a partir do grau zero, e um agravamento da condição, em 75% dos casos de lesão pré-competição.

Drogas antiinflamatórias não esteroidais são causa de ulceração gástrica na maioria das espécies, incluindo cavalos (Traub-Dargatz, 1988; Traub-Dargatz et al., 1988; MacAllister e Sangiah., 1993), porém a prevalência de úlceras é elevada mesmo em cavalos sem histórico de medicação (Hammond et al., 1986; Vatistas et al., 1994).

Segundo Borrow (1993), os AINEs produzem lesões gástricas caracterizadas por ulceração e hemorragia, tanto pelo rompimento da barreira epitelial da mucosa quanto pelo bloqueio da atividade da ciclo-oxigenase, inibindo a biossíntese de prostaglandinas com ação citoprotetora.

A hipotensão é um elemento comum a uma série de doenças graves. Estudos experimentais demonstram que o choque hemorrágico, mesmo breve, causa ulceração gástrica superficial. Um aumento do tônus simpático pode eventualmente levar à isquemia da mucosa gástrica, com falhas na proteção da mucosa e conseqüente ulceração (Geor e Papich, 1990).

A ulceração parece ser resultado da reduzida perfusão capilar focal, secundária a contrações de alta amplitude e baixa velocidade do estômago. Essas contrações provocam uma saída do sangue dos capilares e, quando prolongadas, limitam a perfusão, por tempo suficiente para que a lesão pelo ácido possa ocorrer (Murray, 1991b).

Em potros, é observado um retardo do esvaziamento gástrico. Esse fenômeno sugere que a desmotilidade gástrica ou duodenal é a causa da ulceração gastroduodenal, permitindo um tempo mais prolongado de contato da mucosa com o ácido e a pepsina (Geor e Papich, 1990). Campbell-Thompson e Merritt (1988) sugerem a presença de gastroenterite, de origem viral ou bacteriana ou secundária à ulceração, como causa deste retardo.

O estresse supostamente contribui para a ulceração gástrica e produz desconforto epigástrico em humanos

(Orsini, 2000). Borrow (1993) descreveu três casos de ulceração gástrica e perfuração duodenal em potros com estresse, pelo manuseio e medicação, mas principalmente pelo transporte. Este último, envolve diversos fatores potencialmente estressores, sendo físicos o barulho e a vibração, e emocionais o ambiente desconhecido e o reagrupamento social.

Pacientes humanos em Unidade de Tratamento Intensivo estão sujeitos a hemorragias, sendo um fator complicador em casos graves. O estresse é um dos fatores mais importantes na gênese dessas gastrites. O mecanismo é explicado pela liberação de catecolaminas, com conseqüente vasoconstrição, isquemia da mucosa, perda da resistência, descamação e retrodifusão de ácido para a lâmina própria (Meirelles Filho e André, 2000).

A patogênese da ulceração gástrica em potros neonatos severamente doentes pode ser similar à das úlceras por estresse em humanos, causada por septicemia, uremia, coagulopatia e trauma ou cirurgia de grande porte (Geor e Papich, 1990; Murray, 1997). Furr e Murray (1990) observaram potros nessa condição com tendência a ulcerar na porção glandular da mucosa. Estudo posterior não observou diferenças nas concentrações séricas de triiodotiroxina (T3) e tetraiodotiroxina (T4) em potros estressados clinicamente (Furr et al., 1992).

Não foram detectadas diferenças nas lesões gástricas entre potros estressados ou não. Foram consideradas causas de estresse a infestação por carrapatos, problemas respiratórios, doença cutânea, babesiose, espessamento

umbilical, diarreia, problemas ortopédicos e miíase (Dearo et al., 1998).

O estresse do parto em potros, bem como o do treinamento e confinamento em cavalos adultos, pode levar a um excesso de corticosteróides endógenos, que podem inibir a síntese de prostaglandinas (Andrews e Nadeau, 1999).

Segundo Pfeiffer (1992), por ser a úlcera péptica uma doença comum no ser humano, ela tem sido extensamente estudada em animais de laboratório, tais como ratos, camundongos, outros roedores, cães, gatos e ferretes. Entretanto, a ulceração gástrica ocorre também nos grandes animais domésticos, aves e animais selvagens, inclusive mamíferos marinhos. Há uma alta incidência de úlceras gástricas espontâneas em bovinos, suínos, eqüinos e frangos.

Estudos sobre a erosão cuticular do proventrículo de frangos trouxeram algumas informações interessantes: a bile previne a erosão, as lesões surgem histologicamente de hemorragia capilar na submucosa, podendo ser reduzida pela presença de areia ou leite na dieta e agravada pela adrenalina, em pintinhos, antes da eclosão assim como pela presença de histamina em alimentos malconservados.

Em bovinos, as ulcerações podem ser vistas em todas as câmaras gástricas, principalmente no abomaso (1,6% à necropsia) e, por motivos econômicos, animais severamente afetados são sacrificados. Em suínos, úlceras esofagogástricas podem ser letais, devido à massiva hemorragia intragástrica, ocorrendo em todas as

raças, a qualquer idade e sexo. A relação com estresse foi comprovada, incluindo a contenção, transporte, parto e superpopulação. Outro fator é o alimento finamente triturado, demonstrando que essa patologia, de causa multifatorial, envolve fatores ambientais e dietéticos.

### 2.2.3 Patofisiologia das úlceras pépticas

O termo péptico se origina do grego *peptein*, que significa digerir ou que serve para auxiliar na digestão dos alimentos (Fontinha, 1957).

A frase cunhada por Schwartz, em 1910, “sem ácido, sem úlcera”, permanece atual (citado por Eisig et al., 2000). Lesões gástricas têm sido observadas até em potros de dois dias de idade (Murray, 1999) e mesmo em neonato de um dia (Lewis, 2003). Entretanto, Murray (1999) não observou lesões gástricas em fetos abortados ou em potros a termo que morreram por parto distócico. As lesões se desenvolvem, quando ocorre um desequilíbrio entre os fatores de lesão (ácido hidrolórico e pepsina) e de proteção da mucosa (Murray, 1992a; Geor e Papich, 1990).

Baseados na possível semelhança com a patofisiologia da doença humana, a maioria dos estudos terapêuticos em eqüinos focam na redução da secreção gástrica ácida, entendendo que a patofisiologia seja semelhante à doença humana. Os estudos têm sido basicamente descritivos, incluindo melhora clínica identificada gastroscopicamente após intervenção farmacológica (Hammond et al., 1986;

Furr e Murray, 1990; MacAllister e Sangiah, 1993; Murray, 1994; Murray e Eichorn, 1996).

Eqüinos jovens secretam ácido e pepsina continuamente, estando em jejum ou se alimentando, e, mesmo assim, são capazes de manter a integridade da mucosa a maior parte do tempo (Campbell-Thompson e Merritt, 1988). Em cavalos adultos, o pH gástrico cai abruptamente, abaixo de dois, quando o animal para de se alimentar. Alternar períodos de jejum de 24h com feno à vontade resultou em erosões e ulcerações da mucosa escamosa (Murray e Eichorn, 1996).

A acidez gástrica é influenciada pelo aleitamento, diminuindo com a ingestão do leite (Sanchez et al., 1998). Ainda que a ingestão alimentar estimule a secreção gástrica, essa atividade também estimula a salivação e o alimento ingerido pode absorver as secreções gástricas e minimizar seu contato com a superfície da mucosa. Portanto, fatores que reduzem a frequência e o volume do alimento ingerido irão levar a uma exposição maior da mucosa gástrica às secreções gástricas (Murray, 1999).

O epitélio gástrico escamoso é mais susceptível à injúria péptica do que a mucosa glandular, pois esta possui defesas mais elaboradas (Murray, 1999). A mucosa escamosa do estômago eqüino não possui a barreira muco-bicarbonato, tendo resistência mínima à exposição ácida (Murray, 1997).

Argenzio e Eisemann (1996) ao estudarem a ação dos ácidos fracos sobre a mucosa escamosa de suínos observaram que os ácidos graxos

voláteis, subprodutos da fermentação dos carboidratos, são altamente lipossolúveis e penetram facilmente na mucosa escamosa, na presença de baixo pH. Dentro da célula, causam acidificação, edema, inflamação e ulceração.

Sais biliares, normalmente na forma dissociada no intestino, podem deionizar no pH baixo do estômago e, sendo lipossolúveis, ganham acesso à mucosa estratificada (Lang et al., 1998). Essa ação se torna muito evidente, mesmo após um jejum de apenas 14 horas, ocorrendo alteração no transporte eletrolítico na mucosa, conforme observado por Berschneider et al. (1999).

O pepsinogênio, transformado em pepsina na presença de pH inferior a 4, tem um papel importante no desenvolvimento da ulceração gástrica. Essa enzima proteolítica atua sinergicamente com o ácido clorídrico, resultando em lesão por ácido. Apesar de o HCl e de o pH gástrico terem sido incriminados como os principais agentes da ulceração, é provável que uma combinação de HCl, ácidos orgânicos e pepsina atuem sinergicamente (Buchanan e Andrews, 2003). Os autores listam os fatores de risco da síndrome da úlcera gástrica eqüina: estresse, transporte, dieta rica em grãos, confinamento em baia, alimentação intermitente, exercício intenso, corrida, doença, uso de AINEs, mudanças de manejo.

## **2.2.4 Diagnóstico**

### **2.2.4.1 Aspectos clínicos**

Duas síndromes diferentes, relacionadas à idade, têm sido descritas. Uma em potros, de até nove meses de idade, e outra para sobreano e cavalos adultos. Apesar da patogênese ser similar, estas duas síndromes frequentemente têm causas desencadeantes diferentes e podem produzir sintomas clínicos diversos (Andrews e Nadeau, 1999). O quadro clínico em eqüinos sobreano e adultos é menos evidente, entretanto, pode ser economicamente mais importante.

Cavalos adultos com ulceração da mucosa escamosa apresentam sintomas de cólica, condição física ruim, anorexia e outros sintomas vagos, além de poder ocorrer severa hemorragia das lesões (Campbell-Thompson e Merritt, 1990; Murray, 1991a). Os autores relatam também, como sintomas adicionais, salivação, bruxismo, inapetência, eructação, produção de grandes volumes de conteúdo gástrico e melhora da dor após descompressão.

As úlceras da mucosa escamosa podem sofrer hemorragia no curto prazo de 48 horas (Murray, 1997). Essa hemorragia, entretanto, não está associada à anemia ou hipoproteinemia (Murray, 1991a). Em potros, as ulcerações costumam ser divididas em quatro categorias: *silenciosas* - muitas vezes encontradas à necropsia; *ativas* - que produzem dor abdominal, refluxo duodenogástrico ou gastroesofágico e esofagite de refluxo; *perfuradas* - que resultam em peritonite fulminante e *obstrução gástrica ou duodenal* - como seqüela de fibrose e constrição duodenal (Fiske, 1986; Madigan, 1994; Perkins e Vasey, 1994).

A associação de úlceras gástricas, com distensão abdominal ou timpanismo

colônico, sugere desordens da motilidade intestinal acompanhada de ulceração gástrica, apesar de não ter sido possível determinar qual dos dois era o evento primário. Entretanto, a ulceração gástrica pode resultar de alterações no balanço dos fatores neural e humoral, afetando a motilidade gastrointestinal (Murray, 1989a). Em alguns casos, as desordens da motilidade, associadas ao timpanismo colônico e cecal, deslocamento do colo e impacções colônicas, podem ser secundárias à ulceração gástrica.

As úlceras duodenais em potros podem perfurar e levar ao óbito rapidamente (King, 1996). Às vezes, o quadro crônico e produz estenose duodenal e sintomas de obstrução. Também pode ocorrer megaesôfago e pneumonia por aspiração, em casos extremos (Murray et al., 1988). Traub-Dargatz et al. (1985) relatam um caso de exangüinação em potro, em consequência de ulceração gástrica.

Murray (1991a) baseia o diagnóstico nos sintomas clínicos, achados de endoscopia e na resposta ao tratamento. O radiodiagnóstico pode ser tentado, apesar de raramente evidenciar ulceração, mesmo com contraste (Campbell-Thompson e Merritt, 1990). Já para Perkins e Vasey (1994), o exame ultrassonográfico fornece informações adicionais com respeito à distensão gástrica.

#### **2.2.4.2 Alterações hematológicas e bioquímica do sangue**

Os exames laboratoriais não são conclusivos (Radostits et al., 2002). Wilson e Pearson (1986) procuraram correlacionar o pepsinogênio sérico em

potros com e sem úlcera, sem resultados significantes. O teste para sangue oculto fecal tem valor apenas em potros jovens, pois a microflora colônica digere completamente a hemoglobina (Murray, 2000).

O hemograma equino sofre alterações referentes à raça e sexo. Assim, existem diferenças entre os animais ditos de sangue quente e as raças de tração, havendo nos primeiros, parâmetros mais elevados de eritrócitos, e um volume corpuscular médio (VCM) mais baixo do que em outras raças. Ocorre também uma proporção menor de neutrófilos:linfócitos (N:L), sendo essa relação nos cavalos das raças PSI e Árabe de 1,0:1,0 (Jain, 1993).

Alterações causadas pelo desenvolvimento durante os primeiros meses de vida devem ser levadas em consideração durante a interpretação do hemograma (Harvey, 1990). Em potros, observa-se aumento na contagem de eritrócitos, hemoglobina e hematócrito ao parto, caindo rapidamente ao começar a amamentação. A redução desses parâmetros continua pelo primeiro mês de vida, voltando a crescer gradualmente até se estabilizar, em torno do primeiro ano de idade (Jain, 1993).

Potros jovens podem apresentar uma anemia considerada fisiológica, devido ao baixo estímulo de produção eritrocítica ao nascimento, além do fornecimento de ferro ser subótimo. Também, o volume corpuscular médio (VCM) atinge o seu menor valor em torno do quinto mês de idade (Harvey, 1990).

O número de eritrócitos pode sofrer variações fisiológicas, estando o

fenômeno relacionado ao efeito da epinefrina. O baço atua como reservatório de eritrócitos, que podem ser liberados para a corrente sanguínea em minutos, durante períodos de excitação ou exercício intenso. Uma discreta agitação por venopunção, efetuada por pessoa estranha, pode resultar em uma elevação de 10 a 15% na contagem de eritrócitos, e elevações maiores podem ocorrer com o aumento e duração do estresse físico, com variações individuais. Excitação, atividade muscular, horário de coleta, uso de cachimbo, dentre outros, igualmente introduzem diferenças significativas na contagem de hemácias. Concomitante, pode ocorrer uma elevação do VCM e redução da concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e da hemoglobina corpuscular média (HCM), após exercício vigoroso (Jain, 1993).

Poiquilocitose pode ocorrer de forma fisiológica ou patológica, apesar de suas causas básicas permanecerem desconhecidas (Jain, 1993).

Com relação às plaquetas, o cavalo, entre as espécies domésticas, é o que apresenta o seu menor número (Jain, 1993). Nos potros, a contagem é relativamente constante (em torno de 100.000 a 450.000/ $\mu$ l) durante o primeiro ano de vida (Harvey, 1990).

A contagem total de leucócitos é habitualmente alta em potros ao nascer e diminui gradualmente até atingir valores adultos, em torno de um ano de idade. Observa-se, nas fêmeas eqüinas, uma contagem de leucócitos mais elevada que nos machos, pelo número

mais elevado de neutrófilos e linfócitos (Jain, 1993).

Apesar das consideráveis variações individuais, a contagem dos neutrófilos tende a reduzir do primeiro dia de vida para valores em torno de 4.000/ $\mu$ l aos seis meses de idade. Os bastonetes habitualmente estão ausentes ou, se presentes, em um baixo número, em potros saudáveis, e geralmente não excedem 150/ $\mu$ l (Harvey, 1990).

Nos eqüinos, ao nascer, a proporção N:L sofre rápida mudança. Ao nascimento essa relação atinge 2,88:1,0 caindo para 1,0:1,0 entre três a quatro meses de idade, devido à redução do número de neutrófilos (Harvey, 1990; Jain, 1993).

Os linfócitos continuam a crescer até os oito meses, gerando uma relação abaixo de um, com o máximo da contagem de linfócitos aos sete meses de idade. A partir daí, seu número declina e reverte a proporção, entre um e dois anos de idade (Jain, 1993). Ao nascer, os eosinófilos encontram-se ausentes, aumentando lentamente até o quarto mês de vida. As contagens de monócitos e basófilos não alteram significativamente durante o primeiro ano de vida, sendo que a contagem de monócitos oscila entre 200 e 400/ $\mu$ l, e a contagem de basófilos raramente excede 100/ $\mu$ l (Harvey, 1990).

Leucocitose fisiológica é um fenômeno ativado por estresse psicológico e fisiológico, em oposição à leucocitose reativa, vista nas doenças. Alterações na contagem de leucócitos nessas circunstâncias são mediadas através da liberação de epinefrina e corticosteróides (Jain, 1993). A epinefrina, liberada durante diversas

formas de estresse físico e emocional, causa uma neutrofilia e/ou linfocitose transientes, minutos após a sua liberação. Um aumento do fluxo de sangue e linfa, por medo ou apreensão, leva à mobilização de neutrófilos e linfócitos das vastas reservas capilares e dos órgãos linfóides periféricos, respectivamente, para a circulação geral (Jain, 1993).

Esse fenômeno pode ser disparado nas condições que requerem contenção, como para coleta de sangue. A proporção de N:L será menor que 0,9:1,0 ou maior que 1,0:1,0, refletindo uma perturbação significativa das proporções normais de neutrófilos e linfócitos, respectivamente (Jain, 1993).

O deslocamento dos leucócitos da rede capilar para a circulação central ocorre pelo fenômeno de demarginação dos neutrófilos, mediante ação  $\beta$ -adrenérgica da epinefrina, causando a liberação de AMP cíclico das células endoteliais, reduzindo, portanto, a aderência dos neutrófilos. Alterações associadas incluem linfopenia e eosinopenia. Já a monocitose ocorre de forma inconsistente nos eqüinos (Jain, 1993).

Leucocitose induzida por estresse deve ser distinguida da resposta à epinefrina. Tipicamente, é uma leucocitose por neutrofilia, sem desvio para a esquerda, que se deve à mobilização dos neutrófilos da medula óssea e a uma redução da diapedese dos neutrófilos. A linfopenia se deve à linfólise e/ou seqüestro pelos tecidos linfóides. A linfólise se deve aos linfócitos T esteróide-sensíveis no sangue e tecidos linfóides e o seqüestro à marginação e

retenção dos linfócitos em sítios extravasculares (Jain, 1993).

A eosinopenia ocorre basicamente como resultado da redução do fluxo destes pela medula óssea, por interferência quimiostática da histamina sobre os eosinófilos. A redução dos basófilos ocorre de forma semelhante. A causa da monocitose permanece desconhecida (Jain, 1993).

As alterações devidas à liberação de corticosteróides são observadas poucas horas depois. Esses efeitos duram menos de 24h, porém podem se manter, de forma atenuada, nos casos de liberação ou administração crônica de glicocorticóides (Jain, 1993).

Leucocitose reativa ocorre em resposta a doenças, sendo essa resposta moderada nos eqüinos, devido à baixa proporção N:L. A neutropenia se desenvolve geralmente por depleção devida à necessidade excessiva no início das infecções agudas. Nos casos menos severos, a granulopoiese é estimulada na medula óssea em resposta à demanda funcional maior. Estas respostas podem estar acompanhadas do desvio à esquerda, sugerindo a presença excessiva de neutrófilos imaturos na corrente sanguínea (Jain, 1993).

A relação bastonetes:neutrófilos totais (B:N) é um índice razoável para discriminar potros com septicemia ou não ( $P < 0,01$ ). Os valores médios foram  $0,31 \pm 1,18$  para os casos septicêmicos e de  $0,02 \pm 0,07$  para os não sépticos (Brewer, 1990).

A leucopenia se desenvolve basicamente pela neutropenia e linfopenia, em eqüinos com baixa proporção N:L, podendo ser

observada em severas infecções bacterianas e virais (Jain, 1993).

A anemias e resposta eritropoiética associada podem influenciar a contagem total e diferencial de leucócitos, gerando leucocitose e neutrofilia com desvio

para a esquerda, por estímulo generalizado na medula óssea (Jain, 1993). Os valores normais da série vermelha e branca estão listados nas Tab. 1 e 2.

Tabela 1: Valores normais dos parâmetros eritrocíticos e de plaquetas em potros de 4 a 9 meses de idade.

Idade	Hematócrito (%)	Hemoglobina (g/dl)	Eritrócitos ( $\times 10^6/\mu\text{l}$ )	VCM (fl)	CHCM (g/dl)	Plaquetas ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )
4 meses	32-43	11,6-17,2	8,9-12,7	31-37	34-40	140-388
5 meses	29-41	10,5-15,2	8,8-11,4	32-38	34-41	132-376
6 meses	29-41	10,8-15,4	7,9-11,6	32-39	33-40	128-368
9 meses	31-44	10,9-15,9	8,0-11,2	36-43	32-40	105-337

Adaptado de Harvey (1990). VCM = volume corpuscular médio; CHCM = concentração de hemoglobina corpuscular média.

Tabela 2: Valores normais de contagem de leucócitos em potros de 4 a 9 meses de idade.

Idade	Leucócitos ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )	Neutrófilos ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )	Linfócitos ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )	Monócitos ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )	Eosinófilos ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )	Basófilos ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )
4 meses	6,2-14,2	3,01-7,48	2,80-7,32	0,08-0,66	0-0,99	0-0,07
5 meses	6,4-14,6	1,70-8,40	2,37-7,88	0,09-0,51	0-0,58	0-0,06
6 meses	7,8-11,6	2,89-5,56	3,20-6,01	0,04-0,45	0-0,55	0-0,06
9 meses	6,3-11,1	2,60-5,38	2,98-6,59	0,05-0,42	0-0,70	0-0,07

Adaptado de Harvey (1990).

Ocorre hemólise quando os anticorpos se combinam com antígeno na membrana do eritrócito. Os eritrócitos revestidos com imunoglobulinas ou imunocomplexos, em geral, são removidos da circulação por macrófagos fixados aos tecidos no baço, no fígado e na medula óssea. Quando os anticorpos sensibilizados são IgM ou IgG, ativados por complemento, ocorre hemólise intravascular mediada por complemento. A hemólise imunomediada pode ser um processo primário, como a isoeritrolise neonatal, entretanto mais comumente é um

problema secundário associado a infecções virais, bacterianas e por protozoários (Morris, 2000).

A babesiose é causada por protozoários do gênero *Babesia*, transmitida por carrapatos, sendo a única doença parasitária intraeritocitária de eqüinos. Tem ampla distribuição nas áreas tropicais e subtropicais, incidindo menos nas regiões temperadas, correspondente ao *habitat* dos carrapatos que servem como vetores naturais (Knowles, 1992; Morris, 2000).

A doença clínica em geral se desenvolve cinco a 28 dias após eqüinos

susceptíveis serem introduzidos em uma área endêmica. Os sinais incluem febre, depressão, anorexia, fraqueza, ataxia, lacrimejamento, secreção nasal mucóide, quemose, icterícia e hemoglobinúria, estas duas últimas após hemólise causada pela infecção dos eritrócitos pelos merozoítos. A *B. caballi* é eventualmente seqüestrada nos capilares cerebrais, ocluindo o fluxo sanguíneo (Knowles, 1992; Morris, 2000).

Pode ocorrer morte em 48h ou a doença crônica (febre e anemia), persistindo por meses. Equínos criados em áreas endêmicas costumam ser portadores de *Babesia* sem exibirem sinais clínicos (Morris, 2000).

A transmissão natural das espécies de *Babesia* ocorre através de carrapatos (Knowles, 1992), embora possam ser transmitidas por agulhas ou instrumentos contaminados (Morris, 2000). A *B. caballi* aparentemente permanece nos seus vetores por muitas gerações, porém não persiste por mais de um a quatro anos no hospedeiro vertebrado e raramente é transmitida ao feto. Ao contrário, a *B. equi* persiste no seu hospedeiro por muitos anos, talvez a vida toda, e a transmissão intra-uterina é comum (Knowles, 1992).

A doença clínica associada à infecção por *B. equi* é muito mais grave que a causada por *B. caballi*, e a taxa de mortalidade é mais elevada. Os equínos que sobrevivem à babesiose clínica permanecem portadores inaparentes por um período indeterminado, a menos que sejam tratados. Acredita-se que potros nascidos em áreas endêmicas apresentem a infecção subclínica à medida que perdem os anticorpos

maternos e, assim, desenvolvam forte imunidade ativa, dependente da presença constante do microorganismo (pré-imunização). Estresses como treinamento, transporte, condições climáticas adversas ou prenhez podem induzir a doença clínica em equínos portadores (Morris, 2000).

Os dados laboratoriais são compatíveis com anemia hemolítica. Os eritrócitos parasitados podem ser vistos com facilidade em esfregaços sanguíneos de rotina durante o período febril, mas, em geral, estão ausentes na crise hemolítica. Os microorganismos multiplicam-se por divisão binária e vê-se *B. caballi* como um par de corpos piriformes de 3x2µm nos eritrócitos parasitados. A *B. equi* é muito menor (1 a 2µm) e, em geral, é vista como estruturas ovóides em grupos de quatro, formando uma cruz de Malta (Morris, 2000).

O leucograma que ocorre na babesiose é de estresse, ou seja, leucocitose, neutrofilia, eosinopenia e linfopenia passageiras, a maioria relativa, isso no início do quadro. As lesões secundárias ao comprometimento renal podem provocar alterações na série branca decorrente das lesões, já a série vermelha vai variar de anemias regenerativas a quadros arregenerativos, dependendo da gravidade da cepa e do apoio terapêutico<sup>3</sup>.

O diagnóstico definitivo da babesiose assenta-se na demonstração de eritrócitos parasitados em esfregaços sanguíneos corados por Giemsa ou na sorologia positiva. O dipropionato de imidocarb é eficaz no sentido de deprimir a parasitemia e, em geral,

---

<sup>3</sup> Comunicação pessoal, Dr. Francisco Duque de Mesquita Neto – UFLA.

erradica a infecção por *B. caballi*, quando administrado na dose e no período apropriados (2,2mg/kg a intervalos de 24h, 2x). A *B. equi* é muito mais resistente, e a terapia com imidocarb (4mg/kg a intervalos de 72h, 4x) tem apenas 50 a 60% de eficácia para a eliminação da infecção (Morris, 2000).

### 2.2.4.3 Gastroduodenoscopia

A endoscopia do trato digestivo em eqüinos, tanto adultos quanto potros, é relativamente recente, datando de pouco mais de vinte anos os relatos mais antigos. Inicialmente lançou-se mão de aparelhos de uso humano, até a indústria se adequar à produção de aparelhos apropriados ao uso veterinário (Murray, 1990).

O objetivo do exame gastroscópico é estabelecer a presença de lesão ulcerada, definir sua natureza, se benigna ou maligna, e demonstrar outras anormalidades que porventura existam no trato digestivo alto (Leitão e Soares, 2000).

Os aparelhos são de dois tipos: fibroscópio ou videoendoscópio, diferindo na forma de processar a imagem. Ambos possuem feixes de fibra de vidro, para condução da luz e da imagem. Para a condução da imagem, é necessário que as fibras sejam recobertas com uma finíssima camada de vidro de baixo índice de refração, para garantir que não haja dispersão da luz durante o seu trajeto. Também é essencial que essas fibras estejam dispostas de forma coerente, isto é, ocupem a mesma posição de ponta a ponta, para não haver distorção da imagem. Como uma fibra apenas não

conduz a imagem, é feito um feixe dessas fibras. Quanto maior o número, mais nítida a imagem visualizada. Ou seja, há aparelhos com 5.000 a 40.000 fibras. Os feixes de condução de luz não precisam estar dispostos de forma coerente, e geralmente os endoscópios possuem dois deles, para melhor iluminação. Possuem lentes, na extremidade distal, para convergência da luz, assim como há uma lente na extremidade do feixe de imagem, para conduzir a imagem pelas fibras ópticas. Caso quebre alguma fibra óptica, aparece um ponto negro correspondente à ausência da imagem. O endoscópio possui também um canal auxiliar para passagem de pinças de biópsia, escova de citologia e outros instrumentos auxiliares, assim como um canal para passagem de ar e água (Lamar, 1990).

No caso da videoendoscopia, toda a imagem é processada eletronicamente, sendo a imagem direcionada para um chip (CCD, *charge coupled device*), onde imagens em verde, vermelho e azul são produzidas em *pixels* e conduzidas a um monitor de vídeo, em que os impulsos eletrônicos gerados pelo chip são reconvertidos em imagem. A imagem gerada pela videoendoscopia é de qualidade superior e pode ser armazenada por diversos meios (Murray, 1990).

A técnica endoscópica, em si, é relativamente simples. A extremidade do endoscópio é lubrificada com gel de xilocaína e introduzida pela narina, onde passa pelo turbinado nasal, fazendo-se uma breve visualização do trato aéreo superior. Após passar pela glote, estimulando-se a deglutição, o endoscópio desliza pelo esôfago e penetra no estômago, ao ultrapassar a

cárdia. Uma vez no estômago, ocorre uma visão geral do pilar gástrico e das pregas mucosas da porção aglandular e glandular. Feita a insuflação de ar, será vista a distância, a porção antral (Brown et al, 1985; Adamson e Murray, 1990; White, 1990).

É comum observar acúmulo de líquido amarelado na porção final do estômago, devido ao refluxo de bile e sucos pancreáticos, além da saliva deglutida (Brown et al., 1985), devendo ser aspirada (Adamson e Murray, 1990; Campbell-Thompson e Merritt, 1990; Cudd e Wilson, 1990; Vatistas et al., 1999b). Em potros pequenos, a falha em esvaziar o estômago em 3-4 horas sugere obstrução pilórica ou duodenal (Campbell-Thompson e Merritt, 1990).

A seguir, o endoscópio é conduzido ao longo da curvatura maior, acompanhando a *margo plicatus*, área ligeiramente elevada, onde se encontram as porções escamosas com a glandular, que deve ser estudada de forma detida, por ser sede das principais patologias. Completa-se a volta para chegar à região da cárdia. Nos aparelhos mais modernos, esta volta completa é desnecessária, graças à grande capacidade de retroflexão da porção flexível da ponta do endoscópio. Retornando um pouco, o endoscópio é conduzido pelos movimentos peristálticos para o antro e região pilórica, onde é possível observar o funcionamento do piloro e o refluxo do conteúdo intestinal para o estômago. Finalmente, o aparelho é introduzido no intestino delgado, onde se observa a porção inicial do duodeno (Brown et al., 1985; Adamson e Murray, 1990; White, 1990), até a papila duodenal (saída do colédoco e canal pancreático). Estas

manobras finais requerem paciência, um estômago vazio e um potro cooperativo (Cudd e Wilson, 1990).

A limpeza, desinfecção e esterilização do endoscópio são fatores de preocupação, pela sua demora e complexidade, principalmente quando há necessidade de efetuar diversas endoscopias no mesmo dia. A conservação do endoscópio é influenciada pela qualidade da água, que carrega substâncias salinas, as quais criam incrustações e os cloretos que provocam erosões. Barboza (2004) recomenda água destilada para a higienização do aparelho, pelo menos, no último enxágüe. A matéria orgânica deve ser totalmente removida, com produtos enzimáticos, mediante escovação suave ou uso de ultra-som. Posteriormente, o endoscópio deve ser esterilizado em autoclave ou óxido de etileno, não recomendados os meios químicos, danosos ao aparelho. Entretanto, o glutaraldeído constitui um dos poucos desinfetantes que podem ser globalmente recomendados para uso endoscópico na atualidade (Jesus, 2000), devendo o equipamento passar por uma exposição de 20 minutos a 20°C, a uma solução ativa a 2,4% para uma desinfecção adequada.

Para a execução adequada da gastroendoscopia, são sugeridos variados períodos de jejum. Para potros jovens, Cudd e Wilson (1990) recomendam uma a duas horas. Potros maiores, devem fazer de duas a seis horas de jejum, dependendo da sua idade e grau de ingestão de alimentos. Neste caso, Campbell-Thompson e Merritt (1990) sugerem jejum por pelo menos seis horas, enquanto Murray et

al. (1996) propõem um jejum completo de seis a oito horas.

Adamson e Murray (1990) mantêm o acesso a água até o momento do exame, porém recomendam não deixar os potros com flocinheira, pois aparentemente o seu uso atrasa o esvaziamento gástrico. Potros jovens que ingerem pouco alimento sólido não necessitam de jejum; enquanto que potros maiores, que já consomem alimento sólido, requerem seis a 10 horas de jejum sólido.

Dearo et al. (1998) submetem potros de um a 120 dias de idade a um jejum de 12 a 16 horas, mediante uso de flocinheira antes do exame, exceto em potros exclusivamente em aleitamento, que foram submetidos a apenas quatro horas de jejum, considerando, entretanto, esses períodos inadequados.

Potros em período de desmame, sobreano e cavalos adultos podem requerer de 10 a 12 horas de jejum (Adamson e Murray, 1990; White, 1990; Vatistas et al., 1999a,b), removendo-se a água seis horas antes da endoscopia ou até 24 a 48 horas. Segundo Brown et al. (1985) a água deveria ser retirada 12 horas antes da endoscopia.

Diversos produtos são citados para a contenção química dos animais a serem submetidos à endoscopia, com resultados variáveis. O fármaco mais recomendado é o cloridrato de xilazina, em doses que variam de 0,25mg/kg IV a 1,1mg/kg IV (Murray et al., 1988; Murray, 1989a,b; Murray et al., 1990a; Murray et al., 1990b; Cudd e Wilson, 1990; Murray, 1992b; Murray et al., 1996). São recomendados também hidrocloridrato de detomidina (10µg/kg

IV) e contenção física com cachimbo (Vatistas et al., 1994; Vatistas et al., 1999). Também podem ser utilizadas a romifidina na dose de 0,04 a 0,08mg/kg IV (Dearo et al., 1998) e o diazepam (5-10mg/kg), para potros (Cudd e Wilson, 1990).

Recomenda-se a presença de quatro pessoas para proceder à endoscopia: o endoscopista, que controla o aparelho, a pessoa responsável pela introdução e manutenção do endoscópio em posição e duas pessoas para conter o potro (Adamson e Murray, 1990; Dearo et al., 1998).

Com relação ao tipo de aparelho mais recomendado, Murray (1991a) sugere um endoscópio de 1m de comprimento para potros de 30 a 60 dias de idade, porém um aparelho mais longo (1,6 a 2m) é necessário para potros mais velhos. Para executar duodenoscopia em potros de seis meses de idade, é necessário um aparelho de 2m de comprimento. Já Cudd e Wilson (1990) sugerem um aparelho flexível, de fibra óptica ou videoendoscópio, com diâmetro de 8-10mm e 1,80-2,50m, para uso em potros.

Para cavalos adultos é suficiente um aparelho de 2m para a gastroscopia; porém, se for executada duodenoscopia, é necessário um aparelho de 2,75 a 3m de comprimento (White, 1990; Murray, 1991a).

Com respeito às pinças de biópsia, estas devem ser flexíveis, de aço, estando disponíveis como material descartável ou acessório reutilizável, de maior durabilidade. Uma pinça convencional, de colher larga (*Max jumbo*) permite retirar dois fragmentos em uma mesma passagem pelo canal de biópsia,

fornecendo material de bom tamanho e ainda com a vantagem de produzir menor desgarramento epitelial dos tecidos retirados do que outros tipos de pinças (Oliveira et al., 1994).

A técnica de coleta de biópsia é simples: a pinça é introduzida através do canal de biópsia do endoscópio e exposta na cavidade gástrica, aberta e empurrada contra a parede gástrica. Quando a pinça prender a parede gástrica, será fechada e puxada para dentro do endoscópio, removendo um pequeno pedaço de mucosa. A pinça é removida e novamente aberta. Um pequeno pedaço de mucosa (2mm de diâmetro) é então removido da pinça (Oliveira et al., 1994).

A obtenção de fragmentos da mucosa do esôfago para um exame histológico é mais difícil. Os fragmentos retirados são quase sempre de pequeno tamanho e superficial, não alcançando, sistematicamente, a muscular da mucosa. Por causa disso, o número mínimo exigido para o exame histológico é de dois a três fragmentos por paciente (Oliveira et al., 1994).

Durante a colheita, o material deve ser manuseado corretamente, colocado em papel absorvente antes de ser imerso no líquido fixador, de preferência com a superfície mucosa para cima. Os fragmentos devem ser separados em diferentes frascos, quando há lesões, áreas ou órgãos diferentes, ainda que pertencentes ao mesmo paciente (Oliveira et al., 1994).

O número de biópsias necessário pode ser de cinco a sete, em centros de excelência, quando diversas metodologias serão aplicadas. Para redução de tempo, poderão ser retirados

apenas quatro fragmentos, sendo dois de antro e dois de corpo, no caso de pesquisa de *H. pylori* (Oliveira et al., 1994).

Como a biópsia obtida pela pinça endoscópica freqüentemente se apresenta esmagada e de tamanho pequeno, Murray et al. (2004) propõem uma técnica (ainda experimental) de obtenção de biópsias antrais em eqüinos. Os autores utilizaram uma alça de polipectomia para obter um fragmento maior. Ao mesmo tempo, o fragmento é seguro pela pinça de biópsia e a excisão é feita por eletrocautério, sendo tudo conduzido mediante videoendoscopia. Entretanto, a técnica possui um risco calculado de induzir perfuração e peritonite focal.

As características macroscópicas são extremamente úteis ao patologista, ao avaliar a biópsia sob microscopia óptica. A biópsia permite a avaliação da extensão das lesões (tamanho, forma e profundidade), o estabelecimento do grau de malignidade de lesões neoplásicas, a verificação de resultados de terapêuticas instituídas, a identificação de agentes etiológicos infecciosos e parasitários, a análise histoquímica do material e outras análises específicas (Ohana e Almeida, 2000).

#### **2.2.4.4 Avaliação macroscópica**

Úlcera gastrointestinal é definida como uma alteração da mucosa, na qual ocorre destruição dos elementos celulares, resultando em um defeito que pode se estender até o nível da *lamina própria*. Lesões menos severas são denominadas de erosão e

freqüentemente são precursores de úlceras clínicas (Andrews et al., 1999).

A úlcera deve ser avaliada quanto a sua localização, forma, tamanho e estadiamento. Quanto a esta, a úlcera poderá se apresentar ovalada ou arredondada quando em atividade, francamente tortuosa ou como duas diminutas ulcerações ligadas entre si por ponte fibrosa ou então por linhas cicatriciais de coloração branca ou avermelhada na fase de cicatrização (Leitão e Soares, 2000). Sua superfície poderá estar recoberta por material esbranquiçado ou cinza-esbranquiçado, que se torna esverdeado quando banhado por secreção biliar, ou amarronzado, quando por material hemorrágico.

Macroscopicamente as lesões e alterações da mucosa são edema, hiperemia, hiperqueratose (da porção escamosa), erosões, úlceras, focos de hemorragia, tumorações, presença de parasitas (*Gasterophilus* e *Habronema*). No duodeno, também são observados edema, hiperemia, erosões e úlceras, além de parasitas e tumores. Meirelles Filho e André (2000) incluem nessa observação a presença de exsudato, a friabilidade, atrofia, visualização dos vasos da submucosa, decorrente do adelgaçamento da mucosa gástrica.

A base da úlcera é composta por tecido de granulação, sendo na lesão benigna, plana, lisa e regular. Os bordos da úlcera benigna são lisos, regulares, bem delimitados, a pique e um pouco mais elevados em relação à base (Eisig et al., 2000). Seu diâmetro pode ser estimado mediante as pinças de biópsia abertas, pois a imagem é monocular (Eisig et al., 2000; Leitão e Soares, 2000).

A preocupação com a classificação das lesões gástricas surgiu recentemente. Assim, Murray et al. (1996) propuseram uma classificação das lesões gástricas, pontuadas de zero a 10, com diferenciação para a mucosa escamosa e a glandular. Os autores coletaram imagens de cinco pontos específicos: *margo plicatus* ao longo do lado direito do estômago, idem da grande curvatura, da curvatura menor e cárdia, do fundo dorsal e da mucosa glandular ao longo do lado direito e curvatura maior do estômago. As lesões da mucosa escamosa incluíram hiperemia, uma coloração amarelada, sugerindo hiperqueratose, alteração superficial da mucosa — erosão; alteração profunda da mucosa — ulceração; hemorragia e espessamento de mucosa. As lesões podem estar distribuídas em diversos padrões, incluindo o focal, multifocal e difuso. Nos casos mais graves há uma tendência de combinação de lesões. Na mucosa glandular as lesões foram tipicamente mais discretas e com menos variação. Consistiam de hiperemia, alteração superficial da mucosa — erosão; alteração profunda da mucosa, com centro enegrecido — úlcera. Segundo os autores, qualquer sistema de classificação endoscópica, incorpora a subjetividade, que pode ser minimizada, comparando as imagens a um conjunto padrão.

Em seguida, MacAllister et al. (1997) propuseram um sistema de classificação das lesões gástricas baseado em duas pontuações diferentes: uma descrevendo o número de lesões; outra a sua severidade. As mucosas glandular e aglandular devem ser avaliadas separadamente. Quanto ao aspecto

endoscópico, as úlceras ativas (em formação ou agravação) possuem um aspecto típico, sendo escuras e necróticas na aparência, ou então como crateras hiperêmicas. À medida que a cicatrização progride, elas se tornam mais rosadas e freqüentemente desenvolvem aspecto de tecido de granulação.

Vatistas et al. (1999b) capturaram e digitalizaram as imagens videoendoscópicas posteriormente transferidas para computador. Foi desenvolvido um sistema de classificação de zero a quatro pontos que combinava grau de lesão e tamanho.

A severidade das lesões pode ser classificada de 0 a 4, sendo **0**= o epitélio está intacto, sem hiperemia ou hiperqueratose; **1**= mucosa intacta, porém com áreas de hiperemia ou hiperqueratose (na mucosa escamosa); **2**= lesões pequenas, unitárias ou multifocais; **3**= lesão púnica, grande ou lesões multifocais; **4**= lesões extensas, com áreas de aparente ulceração profunda. Não se menciona a hemorragia, pois esta não determina a severidade. (Andrews et al., 1999).

MacAllister et al. (1997) descreveram a histologia como o único método definitivo para determinar a profundidade da úlcera, enquanto Andrews et al. (2002) compararam resultados de endoscopia seguidos de necropsia e histologia. Durante a endoscopia, o número de úlceras foi subestimado em 57%, quando comparado aos achados de necropsia, principalmente com relação às úlceras glandulares de pequeno diâmetro. Foi encontrada uma associação

significativa, porém fraca ( $P=0,048$ ) entre a classificação endoscópica e a histológica.

#### **2.2.4.5 Avaliação histológica**

Para uma boa avaliação da arquitetura da mucosa, devem ser feitos cortes histológicos em diferentes níveis de profundidade. O ideal seria que os fragmentos pudessem incluir da mucosa até, pelo menos, a muscular da mucosa. As alterações enantematosas, edematosas, erosivas, elevadas ou não, também devem ser identificadas. Fragmentos das áreas lesionadas devem ser coletados (Ohana e Almeida, 2000).

Do ponto de vista histológico, a gastrite refere-se à inflamação da mucosa gástrica, inflamação esta que obrigatoriamente implica em infiltrado linfomonocitário e/ou de neutrófilos, da lâmina própria, acompanhado de maior ou menor alteração do epitélio de revestimento (Meirelles Filho e André, 2000).

Cordeiro et al. (2000) alertaram para o fato de haver espécimes de mucosa gástrica nas quais chama à atenção a ausência de características inflamatórias típicas, sendo o infiltrado leucocitário o componente mais importante. As alterações histológicas limitam-se a fenômenos vasculares, como edema, hiperemia e ectasia capilar, somadas ou não à hiperplasia epitelial e erosões focais do epitélio faveolar. Esse quadro histológico está correlacionado à agressão aguda da mucosa gástrica por agentes ou fatores como drogas, hipovolemia, hipertensão portal, estresse. Essas alterações, em um primeiro momento, não gerariam uma

resposta inflamatória celular, e sugerem o termo gastropatia, para estes casos.

Em medicina humana, a classificação de Sydney - Austrália (Meirelles Filho e André, 2000) caracteriza morfológicamente as gastrites em: *mucosa normal* — presença de pequena quantidade de células mononucleares, ocasionalmente com agregados linfocíticos nas bases das glândulas corpóreas e ausência de neutrófilos; *formas agudas e crônicas* — predomínio de infiltrado inflamatório neutrofilico ou linfoplasmocitário, respectivamente, para as formas agudas e crônicas; *inflamação* — presença de células inflamatórias na lâmina própria, independente de sua localização superficial ou profunda; *atrofia*: redução do número de glândulas gástricas; *atividade* — presença de neutrófilos intra-epiteliais, na lâmina própria ou em ambos; *metaplasia intestinal* — tipos I, II e III; *Helicobacter pylori* — os métodos diagnósticos, assim como o do *Gastropirillum*, devem ser os mais simples e adequados, não havendo obrigatoriedade de utilização de coloração pela prata.

Em 1994, esse sistema foi revisto na reunião de Houston (Texas-USA), quando se buscou estabelecer um consenso com respeito à terminologia referente à gastrite e resolver problemas de graduação histológica, mediante uma tabela visual analógica (Dixon et al., 1996). Traduzir a observação histopatológica para padrões topográficos ou objetivando comparações é possível com o uso de uma escala padrão reproduzível. Esta tabela permitiu graduar inflamação,

atrofia, atividade da gastrite, metaplasia intestinal e densidade de *H. pylori*.

- Densidade de *H. pylori*: para fins de manejo, é importante reconhecer a sua presença e os autores sugerem graduar a sua densidade apenas sobre o epitélio gástrico, onde este é mais comum;
- Atividade de polimorfos nucleares neutrófilos (PMN): a presença de polimorfos nucleares neutrófilos atua como pano de fundo para a inflamação crônica, sinalizando injúria aguda. Os PMN podem ser vistos na lâmina própria, dentro do epitélio e no lúmen das favéolas, onde podem formar abscessos. Sua densidade está correlacionada com a extensão da lesão de mucosa e com a intensidade da infecção por *H. pylori*.
- Inflamação crônica: a mucosa normal contém apenas raras células mononucleares na lâmina própria, e qualquer aumento indica gastrite crônica. A inflamação crônica, na ausência de neutrófilos, é também ativa no sentido de que T-linfócitos citotóxicos e outras células efetoras têm um papel na lesão do tecido e produzem destruição glandular em alguns padrões de gastrite.
- Atrofia glandular: no estômago, é definida pela perda de tecido glandular. A atrofia leva à redução da espessura da mucosa e é um fator comum de

todos os processos patológicos, causando severa lesão mucosa. Podem se seguir à erosão ou ulceração da mucosa ou resultar de um processo inflamatório prolongado. Atrofia extensiva da mucosa antral, geralmente, está associada com metaplasia intestinal, apesar de estar presente sozinha, nos casos de gastrite autoimune.

- Metaplasia intestinal é comum na gastrite crônica e eleva sua prevalência com a duração da doença. É considerada uma lesão pré-maligna, reversível. O epitélio metaplástico pode ser reconhecido morfológicamente pela presença de células caliciformes, células absortivas e células semelhantes aos colonócitos ou então pelo seu conteúdo de enzimas ou mucinas. A metaplasia intestinal pode ser categorizada com base na morfologia e histoquímica enzimática em tipos **intestinal delgado** e **colônico**, ou completa e incompleta, e utilizando-se histoquímica de mucinas em três tipos básicos, de acordo com a morfologia e o conteúdo de glicoproteínas. As glicoproteínas ácidas em células metaplásticas são bem demonstradas com a coloração PAS/AB pH 2,5, que coram em azul ou violeta, em contraste com as mucinas neutras, PAS-positivas, presentes no epitélio superficial e faveolar e nas

glândulas mucosas da mucosa gástrica não metaplástica.

Todas estas condições são graduadas em ausente, leve, moderada ou marcante (em substituição ao termo severo) e pontuadas de 0 a 3, podendo atingir um total de 15 pontos.

Gastrite linfocítica se caracteriza por um aumento dos linfócitos intra-epiteliais na superfície e no epitélio faveolar, junto com um aumento variável de células inflamatórias crônicas na lâmina própria da mucosa gástrica. Pode estar associada com uma mucosa de aspecto aparentemente normal à endoscopia (Hayat et al., 1999).

Murray et al (2003) observou inflamação em graus variados na mucosa gástrica antral de equinos, em amostras colhidas *post-mortem*, que se caracteriza por graus variados de infiltrado inflamatório linfocítico/plasmocítico. Os linfócitos se encontravam com alta frequência nas porções mais profundas da mucosa e muitas vezes concentradas próximo à camada muscular. Em alguns animais, observaram-se também grandes agregados de linfócitos na mucosa antral, enquanto na mucosa da porção do corpo foram observados apenas raros linfócitos.

### 2.2.5 *Helicobacter pylori*

Campilobactérias (ou *Vibrio spp*, então) foram identificadas como importantes patógenos veterinários há noventa anos (McFayden e Stockman, 1913), porém, apenas após o desenvolvimento de técnicas de cultura seletiva, na década de 1970, foi reconhecida sua associação

com a enterite humana. Desde aquela época, diversas novas espécies de *Campylobacter* foram isoladas. Algumas delas permaneceram no gênero *Campylobacter*, e outras foram reclassificadas nos gêneros *Arcobacter* e *Helicobacter*, baseado na investigação taxonômica molecular (Newell, 1997).

A descoberta de *H. pylori* (originalmente classificada como *Campylobacter*), por Warren e Marshall (1983, 1984), revolucionou o pensamento a respeito da etiologia de uma série de patologias gástricas. É uma bactéria microaerofílica, inicialmente encontrada no antro gástrico de pacientes com úlcera péptica.

*H. pylori* é a bactéria padrão do gênero *Helicobacter*, colonizando a mucosa gástrica de aproximadamente 50% da população humana, sem provocar sintomas. A colonização com esse organismo está associada com gastrite crônica superficial, a gastrite atrófica, ulceração péptica, câncer e linfoma gástrico (Bourke et al., 1996). Aparentemente, a via de transmissão de pessoa a pessoa parece ser a forma primária de transmissão.

Uma amplitude de organismos *Helicobacter* gástricos é atualmente reconhecida, os quais evoluíram para ocupar um nicho exclusivo do microambiente gástrico (Newell, 1997). Alguns desses organismos, como o *H. heilmannii*, são dificilmente cultiváveis, indicando que há muitos organismos semelhantes à espera de ser isolados. Muitos desses organismos são considerados espécie-específicos (Tab. 3).

Para cada célula do corpo humano, existem dez bactérias no trato gastrointestinal (GI) (Berg, 1996). A microflora gastrointestinal tem profundo efeito sobre o desenvolvimento anatômico, fisiológico e imunológico do seu hospedeiro. Essa microflora indígena estimula o sistema imune do hospedeiro a responder de forma mais rápida aos desafios dos patógenos e, através do antagonismo bacteriano, inibir a colonização do trato GI por patógenos exógenos. As bactérias indígenas são também patógenos oportunistas e podem translocar através da barreira mucosal e causar infecção sistêmica em hospedeiros debilitados. O estômago humano contém um número muito restrito de microorganismos, tanto pelo pH baixo, quanto pelo fluxo constante, pela peristalse.

Por analogia, alguns autores sugerem a eventual participação de uma infecção bacteriana na mucosa como fator primário no desenvolvimento da lesão gástrica equina. Embora vários esforços venham sendo feitos em laboratórios para o isolamento de tal microorganismo, até o momento nenhum resultado confirma essa hipótese (Buchanan e Andrews, 2003). No entanto, essa hipótese não pode ser descartada, uma vez que os microorganismos envolvidos em doença gástrica de outras espécies têm se mostrado de difícil isolamento e identificação (Barbosa et al., 1995). Uma importante causa de doença péptica em humanos é a infecção pelo *Helicobacter pylori*. Até o momento esta bactéria não foi encontrada em cavalos e possivelmente não seja a causa das ulcerações na mucosa

escamosa nestes, pois o *H. pylori* habita apenas a mucosa glandular (Murray, 1997).

Newell (1997) relata que esse grupo de bactérias proximamente relacionadas forma a maior parte da super família rRNA VI. Membros do grupo são caracterizados pelo seu formato em “s” ou espiral, com flagelos polares que lhes confere alta motilidade. Essa morfologia permite que os organismos colonizem com sucesso a mucosa de diversos sítios do trato gastrointestinal de uma ampla variedade de hospedeiros. Eles são Gram negativos, não formam esporos, são geralmente microaerofílicos e possuem um baixo valor G+C mol% (30-46%). Devido a sua relativa inatividade na maioria dos testes bioquímicos convencionais, eles são freqüentemente de difícil especificação. Isto e as condições exigentes de cultura levam esse grupo de organismos a ser pouco identificado e estudado como bactérias patogênicas.

Robertson (1990) suspeitou haver uma etiologia infecciosa nas ulcerações gástricas dos potros, devido a surtos de casos em algumas fazendas, sem que o agente fosse identificado. Acland et al. (1983) não conseguiram encontrar nenhum agente etiológico bacteriano, aeróbio ou anaeróbio, em culturas, nem vírus, à microscopia eletrônica.

Green et al. (1990), citados por MacAllister (1999), não foram capazes de isolar *H. pylori* de uma série de biopsias da mucosa gástrica em 21 potros, ainda que um potro tenha dado positivo para o teste rápido de urease. Johnson et al. (1994), fazendo um estudo histológico, não encontraram

bacilos curvos ou espiralados em um estudo *post-mortem* com 169 cavalos.

Scott et al. (2001), citados por Buchanan e Andrews (2003), detectaram o DNA de *Helicobacter* em alguns cavalos, porém o significado desse achado permanece em aberto. Murray et al. (2003) obtiveram o mesmo resultado, a partir de biópsias antrais (29/32) com diagnóstico de gastrite linfocítica/plasmocítico. Entretanto, coloração por Giemsa e Hematoxilina-Eosina não revelou bactérias espiraladas.

Recentemente, Hepburn (2004) trabalhando com eqüinos, lançou mão de três testes para diagnóstico de *H. pylori* em humanos: amplificação do DNA específico de *Helicobacter* mediante a técnica de PCR; um teste rápido de urease (Pyloritec<sup>TM</sup>) e teste de uréia <sup>13</sup>C sanguínea, além da gastroscopia e biópsia antral em todos os animais. Todos os 15 animais apresentaram material gênico específico de *Helicobacter* pelo PCR. Sete animais deram positivo pelo teste de urease. Houve enriquecimento significativo do CO<sub>2</sub> corpóreo após administração intragástrica de <sup>13</sup>C uréia, o que reforça a hipótese da presença de um microorganismo urease positivo. Entretanto, como o cavalo é um fermentador cecal, o efeito da urease cecal foi testada mediante administração cecal de <sup>13</sup>C uréia pela via laparoscópica. Atividade cecal de urease foi demonstrada, ocorrendo, entretanto, uma janela de enriquecimento do pique de <sup>13</sup>C de 90 minutos, o que pode limitar os efeitos do teste gástrico.

Tabela 3: Helicobactérias gástricas e sua associação com as doenças produzidas.

ESPÉCIE	HOSPEDEIRO PRINCIPAL	DOENÇA ASSOCIADA	AUTOR
<i>H. pylori</i>	Homem	Gastrite ativa crônica, úlcera péptica, câncer gástrico, linfoma gástrico	
	? Cães		Bicalho (2001)
	?Gatos	Gastrite crônica (experimental)	Handt et al. (1994); Ansorg et al. (1995); Fox et al. (1995)
	?Porcos	Gastrite ativa crônica (experimental)	Bergann (1991); Seidel et al. (1996); Barnes-Green et al. (1997); Choi et al. (2001)
	? Macacos <i>Rhesus</i> e <i>Macaca nemestrina</i>		Baskerville e Newell (1988); Brondson e Schoenknecht (1988)
<i>H. mustelae</i>	Furão	Variável, gastrite crônica e úlcera péptica	Fox, (1986)
<i>H. nemestrinae</i>	<i>Macaca nemestrina</i>	Nenhuma	
<i>H. acinonyx</i>	Guepardo, Tigre	Gastrite aguda	Eaton et al. (1993); Schröder et al. (1998)
<i>H. felis</i>	Gato, cão, homem	Variável, gastrite	Paster et al. (1991); Haziroglu et al. (1995)
<i>Helicobacter</i> -like organisms, do tipo <i>Gastrospirillum</i>	Tigres e leões	Gastrite crônica	Jakob et al. (1997)
<i>H. heilmannii</i>	Homem, cão, gato	Gastrite ativa crônica	Strauss-Ayali et al. (2001)
<i>Gastrospirillum suis</i>	Porco	Úlcera péptica	Mendes et al. (1990)

Modificado de Newell (1997)

*Helicobacter pylori* é uma bactéria Gram negativa, espiralada e encurvada em forma de U ou O e móvel, com quatro a seis flagelos polares. Possui enzimas que lhe permitem colonizar a

mucosa gástrica e assegurar o equilíbrio entre o metabolismo bacteriano e seu poder patogênico, a saber: uma catalase, uma oxidase, amilases, peptidases, fosfatases, fosfolipases e principalmente

uma urease extracelular em quantidade importante (Sobhani et al., 1995).

A bactéria *Helicobacter pylori* coloniza a superfície das células epiteliais gástricas e a camada de muco gelificado, porém possui também uma forma de vida alternativa como biofilme. Microscopia eletrônica de varredura mostra *H. pylori* distribuído como uma matriz sobre o vidro, com canais para fluxo de nutrientes. Essa existência em biofilme permite sua distribuição nos sistemas aquáticos (Cole et al., 2003).

Esses mesmos autores relatam que o *H. pylori* existe no estômago primariamente como uma bactéria planctônica, nadadora, com uma minoria de bactérias aderidas ao epitélio. Se por um lado, o muco gástrico previne a ligação da bactéria à superfície celular, por outro lado o crescimento planctônico da bactéria aumenta. Esse aumento do crescimento já foi observado por Jiang e Doyle (2000), ao adicionar mucina de estômago suíno ao meio de cultura para *H. pylori*. Cole et al., (2003) sugerem, portanto, que o *H. pylori* encontra na mucina gástrica um meio de crescimento seletivo.

Concomitante, a infecção pelo *H. pylori* induz a expressão de um componente secretor nas células mucosas gástricas superficiais. Essas células têm o potencial de translocar IgA para o lúmen gástrico e assim atuar como parte do sistema de defesa contra tal bactéria (Kaneko et al., 2000).

Na ocorrência de metaplasia intestinal, o *H. pylori* apenas coloniza o tecido se ocorrer secreção de mucinas ácidas sulfatadas (sulfomucina), o que leva a

pensar que essa mucina contém algum nutriente para esta bactéria (Bravo e Correa, 1999), tendo sido observado em crianças (Cohen et al., 2000). *H. pylori* produz uma enzima, a glicosulfatase, para atuar sobre esta mucina (Murty et al., 1993).

A susceptibilidade ao *H. pylori* parece ser uma interação entre fatores ambientais e genéticos, sendo observada uma heritabilidade aproximada de 0,66. Fatores genéticos incluem tanto a predisposição genética à infecção quanto as diferenças genéticas entre as cepas de *H. pylori* (Graham et al., 1994).

O modo exato da contaminação permanece desconhecido. Supostamente, a infância é o período da aquisição, porém razões éticas dificultam a pesquisas neste período da vida (Sherman, 1994; Mégraud, 1995). Há evidências a favor da transmissão fecal-oral, assim como pela água e alimentos, além da transmissão oral-oral (Bourke et al., 1996). O microorganismo já foi isolado de fezes, água, saliva e placa dentária (Mégraud, 1995). Marcação molecular de cepas de *H. pylori* demonstra uma transmissão intrafamiliar da infecção, especialmente mãe-filho e filho-filho (Kato e Sherman, 2005).

Em estudo recente (Li e Stuzenberger, 2000) a mosca doméstica (*Musca domestica*) foi indicada como possível vetor de *H. pylori* em áreas rurais. Mediante a aplicação da técnica de PCR, lotes de moscas *H. pylori* positivas foram comparadas com isolados humanos da bactéria. A porcentagem de moscas positivas foi significativamente mais elevada em

granjas suínas do que em granjas aviárias e em postos de ordenha. Moscas contaminadas artificialmente, permaneceram positivas por todo o seu período de vida.

O diagnóstico da contaminação gástrica pode ser feito com o auxílio de técnicas ditas diretas (invasivas) ou indiretas (invasivas ou não). As técnicas que necessitam de endoscopia digestiva são a cultura bacteriana, histologia, citologia, amplificação do genoma viral e o teste rápido de urease. Técnicas independentes da endoscopia são a sorologia, o teste respiratório da uréia e a cultura a partir das fezes (Sobhani et al., 1995).

Bourke et al. (1996) alertam ser a úlcera péptica rara em crianças, e, por este motivo, paradoxalmente, a população pediátrica pode fornecer respostas mais definitivas às diversas controvérsias que atualmente ocorrem em torno do papel do *H. pylori* na doença gastrointestinal humana.

Bah et al. (1995) determinaram que, para prever uma gastrite por *H. pilory* à endoscopia, é necessário observar: textura anormal na superfície antral, superfície mamilar no corpo e erosões no antro branco. Entretanto, a especificidade dessas observações é baixa, concluindo os autores que o diagnóstico não pode ser determinado pela endoscopia apenas.

O exame histológico permite visualizar os microorganismos espiralados nos seios da mucosa gástrica na porção superior das criptas e ao nível do epitélio de revestimento, junto com outros sinais de gastrite crônica: infiltrado inflamatório e atrofia das glândulas gástricas. A coloração mais

comum é a Giemsa (Sobhani et al., 1995).

O teste de urease é rápido, barato e eficiente. É considerado o teste de escolha para o diagnóstico da presença de *H. pylori* na prática clínica. O fragmento da biópsia é colocado em frasco contendo Agar gel, com uréia e vermelho-fenol, como indicador de pH. A grande quantidade de urease produzida pela bactéria transforma a uréia em CO<sub>2</sub> e amônia e aumenta o pH, mudando a cor da solução de amarelada para avermelhada. Geralmente a leitura da viragem é efetuada até as primeiras 24 horas, quando 98% dos resultados positivos são observados (Marshall et al., 1987), entretanto, resultados positivos são observados também após este prazo (Lim, 2004). O prazo de 96 horas é utilizado a título de pesquisa, em medicina humana, uma vez que é possível a ocorrência de colonização muito baixa, que demora em expressar a viragem<sup>4</sup>.

Diversos preparados industriais permitem evidenciar a atividade da urease em uma biópsia antral, em curto espaço de tempo, alterando a coloração de uma solução de uréia, transformada em amoníaco, pela ação da enzima (Sobhani et al., 1995; Bourke, et al., 1996). Esse teste não apresentou resultados falso-positivos, porém houve um índice de 5% de falso-negativos, índice esse considerado inaceitável pelos pesquisadores (El-Zimaity et al., 1995).

---

<sup>4</sup> Comunicação pessoal, Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Ana Margarida Miguel Ferreira Nogueira, Faculdade de Medicina – UFMG

Um teste rápido (PyloriTek®) foi comparado ao Agar gel, evidenciando alto índice de falso-positivo ( $p < 0,02$ ), com sensibilidade e especificidade de 98 e 92% (Agar gel) comparado a 98 e 68% (teste rápido) respectivamente (Yousfi et al., 1997). Em outro trabalho, Chen et al. (1998) encontraram resultados semelhantes, com 8% (Agar gel) e 29% (teste rápido) de falso positivo ( $P = 0,038$ ) para leitura com uma hora.

A gastrina sérica encontra-se mais elevada em pacientes *H. pylori* positivos do que nos negativos, e seus níveis retornam à normalidade após erradicação da bactéria (Varis et al., 1994; Sobhani et al., 1995). Entretanto, (Judd et al., 1999) informam que a gastrina além de regular a secreção ácida, atua como fator de crescimento para a mucosa gástrica, mas, ela não estabelece, nem mantém o quadro da gastrite autoimune, como se pensava anteriormente.

Um exame extremamente acurado, a cadeia de reação da polimerase (PCR) permite amplificar o código do gen 16S rRNA de *H. pylori* e tem sido utilizado na identificação desta e de novas espécies (Ho et al., 1991).

### 2.2.6 Gastrite auto-imune

Gastrite autoimune é uma doença órgão-específica que se manifesta como anemia perniciosa em humanos. A gastrite se caracteriza por um infiltrado monocítico na mucosa gástrica, acompanhada de auto anticorpos direcionados para as subunidades  $\alpha$  e  $\beta$  da  $H^+K^+$ -ATPase parietal (bomba de prótons) e ao fator intrínseco, junto a uma seqüência de alterações nas células

da unidade glandular, com atrofia da mucosa. A doença é caracterizada pela depleção seletiva das células parietais e principais da unidade glandular gástrica, junto com uma hiperplasia das células epiteliais. A maioria das células imaturas não consegue se diferenciar e aparentemente morrem por apoptose (Judd et al., 1999). Concomitante, podem ocorrer outras doenças autoimunes, como a diabetes tipo 1 (insulino-dependente) e a doença autoimune da tireóide (De Block et al., 1999; Segni et al., 2004).

No modelo murino, a gastrite autoimune é induzida pela remoção do timo três dias após o nascimento, com surgimento de infiltrado da submucosa gástrica e lâmina própria entre as unidades celulares com células  $TCD4^+$ , macrófagos e num estágio posterior, com um grande número de células B. A gastrite autoimune é um resultado da atividade das células  $TCD4^+$ , que são específicas para a  $H^+K^+$ -ATPase das células parietais (Morley et al., 1992; Friis-Hansen et al., 1998; Judd et al., 1999; DiPaolo et al., 2005; Van Driel et al., 2005).

Os linfócitos  $TCD4^+$  medeiam a maioria dos efeitos biológicos, tanto diretamente, pela secreção de citocinas e fatores de crescimento, quanto indiretamente pela ativação dos macrófagos. Alternativamente, as citocinas podem alterar o crescimento normal e a diferenciação das células parenquimais, levando a um crescimento anormal ou *déficit* nas populações celulares (Judd et al., 1999).

Franic et al. (2004) examinaram os níveis de mRNA de diversos fatores de crescimento da mucosa gástrica e

observaram que membros da família de fatores de crescimento Reg (RegIII<sup>β</sup> e RegIII<sup>γ</sup>) se encontram muito elevados em camundongos com gastrite autoimune, indicando que nas condições de inflamação crônica como a gastrite autoimune ou infecção bacteriana (p.ex. *H. pylori*) a estimulação contínua de produção dos membros da família de proteínas Reg leva à hiperproliferação e hipertrofia da mucosa gástrica.

Alternativamente, a infecção pelo *H. pylori* pode levar alguns indivíduos a auto-imunidade gástrica via mimica molecular. Em pacientes humanos, infectados com *H. pylori*, células T citotóxicas fazem um reconhecimento cruzado entre diferentes epitopos das proteínas de *H. pylori* e o auto-antígeno da H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase. Isso ocorre porque as células T específicas para H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase também produzem fator de necrose tumoral (TNF)-α, o qual, junto com o interferon (IFN)-γ, pode aumentar a expressão das moléculas da classe II do MHC pelas células gástricas, o que, por sua vez, habilita essas células a apresentarem os peptídeos de auto-antígenos gástricos às células T, que por sua vez se diferenciariam em células Th-1 efetoras. Portanto, células gástricas epiteliais podem atuar como células apresentadoras de antígeno (APC). No caso do *H. pylori* as células Th-1 CD4<sup>+</sup> reconhecem de forma cruzada os epitopos das células parietais da sua própria mucosa gástrica e as diversas proteínas do *H. pylori* (D'Elíos et al., 2004).

Desta forma, em indivíduos geneticamente susceptíveis, a infecção pelo *H. pylori* pode iniciar ou agravar a auto-imunidade gástrica, conduzindo à

gastrite atrófica (D'Elíos et al., 2004; Guariso et al., 2004). Inclusive, essa infecção pode ter ocorrido na infância, persistir por décadas e sofrer uma resolução, pela destruição da anatomia celular normal (Guariso et al., 2004).

Outra idéia que relaciona a infecção por *H. pylori* com alterações patológicas do sistema imune é a eventual associação deste quadro com o aparecimento de linfoma de células B. Segundo D'Elíos et al. (2005) o aparecimento dessa neoplasia seria resultado de uma ativação desregulada de células B, dependente de células T, após exaustiva estimulação por antígenos de *H. pylori*.

No soro, também é possível observar modificações associadas ao quadro de gastrite. Como o aparecimento de anticorpos, pertencentes à classe das imunoglobulinas IgG, reativos para as células parietais e para o fator intrínseco. Esses anticorpos são considerados marcadores altamente específicos dessa patologia, expressando o grau de lesão oxíntica do paciente (Annibale et al., 2005).

Entretanto outras modificações podem ser percebidas, na população de anticorpos presentes no soro, em quadros de doenças autoimune. Uma série de trabalhos foi produzida no Instituto Pasteur a partir da análise global da população de imunoglobulinas do soro (Mouthon et al., 1995; Nobrega et al., 1998; Brissac et al., 1999), mediante técnica desenvolvida por Nóbrega et al. (1993), relacionando doenças autoimunes com modificações de padrões de reatividade global das imunoglobulinas do soro frente a painéis complexos de antígenos.

## 2.3 SÍNDROME DO ESTRESSE

O termo estresse tem sido utilizado em Medicina Veterinária referindo-se a problemas de manejo animal, muitos dos quais têm pouco em comum entre si ou com o conceito original deste (Fraser et al., 1975).

Segundo Fraser et al. (1975) esse conceito sofreu uma grande ampliação e, hoje, na medicina humana pode-se falar de estresse em relação ao trabalho, nível de ruído e urbanização. Em medicina veterinária fala-se do estresse do desmame, excesso alimentar, alterações dietéticas, superpopulação e transporte, criando um conceito de “meio-ambiente feliz” que se refere ao enriquecimento ambiental.

Darwin em 1872 (Darwin, 2000), estudando padrões comportamentais, percebeu uma economia de respostas frente a uma variedade de experiências. Pode-se tremer, p. ex., de medo ou raiva, por exposição ao frio, após trauma grave ou fadiga excessiva e numa variedade de doenças. Estas observações permitiram a Cannon (1929), citado por Fraser et al. (1975), criar uma base fisiológica, dando ênfase à atividade do sistema nervoso simpático e à secreção de adrenalina. Apesar de Cannon ter utilizado o termo estresse para discutir os seus achados, foi Selye (1936) quem iniciou as pesquisas associadas com o termo:

Experimentos em ratos demonstram que se um organismo é severamente lesado por algum agente nocivo agudo, tais como exposição ao frio, injúria cirúrgica, produção de choque espinal (transecção da medula)

exercício muscular excessivo ou intoxicações com doses subletais de diversas drogas (adrenalina, atropina, morfina, formaldeído, etc.) uma síndrome típica aparece, cujos sintomas independem da natureza do agente traumático ou do tipo farmacológico da droga utilizada e representa antes, a resposta à lesão como tal. Esta síndrome se desenvolve em três estágios. O primeiro estágio como a expressão do alarme geral do organismo quando repentinamente confrontado com uma situação crítica e, portanto nomeado de “reação de alarme geral”. Uma vez que a síndrome como um todo parece representar um esforço generalizado do organismo para se adaptar a nova condição, ela pode ser denominada como “síndrome geral de adaptação”. Parece que estas formas, mais ou menos pronunciadas de reação trifásica representam a resposta usual do organismo a estímulos tais como alterações de temperatura, drogas, exercício muscular, aos quais pode ocorrer a habituação ou a resistência (Selye, 1936).

A síndrome do estresse envolve uma série de respostas, sejam elas neurais (central e periférica), endócrinas (glucocorticoides e hormônios da tireóide) ou imunológicas, que, por sua vez, produzem três efeitos característicos: hipertrofia adrenal, involução timo-linfática e úlceras gástricas. Esse último efeito é um fenômeno multifatorial associado com alterações nas funções secretora, vascular e motora do estômago. É possível que a relativa imaturidade do trato gastrointestinal em desenvolvimento possa ser um fator crítico para a susceptibilidade à doença ulcerativa gástrica (Lloyd, 1993).

A resposta fisiológica mais freqüente diante de um estresse agudo é o aumento de secreção de glicocorticóides

pelo eixo hipotálamo-pituitário-adrenal para a corrente sanguínea e o aumento da atividade do ramo simpático do sistema nervoso autônomo, resultando em um aumento dos níveis plasmáticos de adrenalina e noradrenalina, assim como o aumento do débito cardíaco. Posteriormente, o estresse agudo pode induzir alterações nos peptídeos opióides, insulina, prolactina, hormônio do crescimento e vasopressina. Pode estar acompanhado pelo aumento da temperatura corpórea, pela imunossupressão, aumento do nível de íons plasmáticos e redução do ganho de peso (Terlouw et al., 1997).

Desta forma, o conceito de estresse evoluiu para a compreensão de uma reação reflexa, inevitável quando os animais são expostos a um meio ambiente com condições adversas, levando a conseqüências desfavoráveis, que variam desde o desconforto até a morte (Dantzer e Mormède, 1983). Aspectos psicológicos do meio ambiente são poderosos ativadores de respostas endócrinas. Essas características psicológicas seriam: novidade, conflito, incerteza, possibilidades de ajustamento ativo e retroalimentação informacional. Mason (1971), citado por Dantzer e Mormède (1983), provou que tratamentos com frio, calor, jejum ou exercício, não ativam o eixo pituitário-adrenal, caso o estímulo emocional seja cuidadosamente evitado. Suas pesquisas o levaram a três conclusões: a) a resposta psicológica é inespecífica, não por causa da resposta, mas por causa do aspecto psicológico ambiental apresentado a um sujeito consciente. Ou seja, a não-especificidade se encontra na parte aferente e não na eferente da

reação de estresse; b) esses estímulos exteroceptivos podem ser estudados individualmente; c) as reações de estresse não podem mais ser vistas como simples reflexos, podendo ser creditados aos animais experiências mentais.

Pfeiffer (1992) considerou fatores relacionados ao estresse psicológico/ambiental, assim como drogas e fatores de estresse fisiológico, surgindo como causa de desequilíbrio entre a resistência e os fatores de agressão da mucosa gástrica equina.

Yousef (1985) estudando o efeito da temperatura sobre a função digestiva de eqüinos, não encontrou alterações importantes, observando apenas no caso de frio muito intenso, um aumento acima de 50% da ingestão, podendo aumentar a taxa de passagem do alimento e diminuir a eficiência da digestão.

Para Collier (1999), como o cavalo é um animal de pastejo, em constante fluxo de saliva e gramineas para o interior do estômago, isso tamponaria o ácido gástrico. Durante o treinamento, os cavalos são presos em baias por períodos prolongados sem acesso a pasto e recebendo alimento concentrado de forma intermitente, contornando o mecanismo tamponante.

Um aumento da concentração de gastrina sérica foi detectado em cavalos sob estresse físico (Furr et al., 1994), assim como em potros neonatos sob estresse, junto com a elevação do cortisol (Furr e Muray, 1990). O aumento da gastrina sérica poderia elevar a secreção glandular de HCl, a qual levaria à lesão por ácido.

Por outro lado, é reconhecido o aumento do nível sanguíneo de cortisol, fator de imunodepressão, como elemento constante nos casos de estresse. A produção elevada tem como objetivo aumentar a glicose sanguínea e armazenar glicogênio para suprir energia nas respostas de luta-ou-fuga comumente associadas ao estresse (Nelson e Cox, 2002).

A tensão emocional parece produzir úlcera por aumentar o fluxo de sucos ácidos no estômago. A conexão entre distúrbio emocional, secreção gástrica e úlceras está bem documentada. Mas não é qualquer tipo de tensão emocional que produz úlcera, e o mesmo tipo de tensão pode produzir úlcera numa pessoa e não produzir em outra. A experimentação em animais permitiu estudar o efeito da tensão emocional sobre o organismo em geral. No trabalho clássico de Brady (1958/1977), a experiência de condicionamento envolve o treinamento de macacos em “cadeiras restritivas”. Os dois animais recebem choques elétricos breves, a intervalos regulares. O macaco “executivo” aprendeu a apertar a alavanca com a mão esquerda, o que evita o choque para os dois animais. O macaco controle perdeu o interesse em sua alavanca, que é falsa. Apenas os macacos executivos desenvolveram úlceras.

Há que se fazer uma distinção entre *emoção* e *emotividade* e entre *angústia* (somática) e *ansiedade* (psíquica). Dejours (1988), citado por Castiel (1994) esclarece que segundo a psicofisiologia, a emoção estaria dominada por manifestações viscerais, endócrinas e metabólicas (eventualmente, também, por comportamentos motores – fuga ou

agressão). O âmbito da emoção está delimitado pela esfera de atuação da musculatura lisa: motricidade digestiva – contrações gástricas, cólicas intestinais; motricidade vascular – vasoconstrição, vasodilatação, taquicardia, hipertensão arterial; motricidade respiratória – taquipnéia, broncoespasmo. Utilizando-se concepções da etologia, pode-se dizer que a emoção está vinculada ao etograma da espécie, estabelecido em seu programa genético. Já a emotividade indica um modo particular de reação, próprio ao indivíduo, em relação aos estímulos que lhe acossam. Pode-se considerá-la como resultante do processo epigenético ao qual o indivíduo é submetido após o seu nascimento (experiências que lhe são específicas). No estresse, somente o efeito global é considerado. Basta acompanhar as variações dos valores dos fatores biológicos de modo a lhes atribuir índices de significação, conforme determinada situação ansiogênica. Assim, não interessa se o estado de estresse corresponde ao que é considerada angústia ou ansiedade.

Melmed e Gelpin (1996) reparam que a descoberta do *H. pylori* em humanos trivializou o papel dos fatores psicossociais na causa da úlcera duodenal. Apesar da sua ampla distribuição, no primeiro e terceiro mundo, apenas um pequeno número de pessoas desenvolve úlcera duodenal. Dados epidemiológicos, clínicos e genéticos oferecem uma grande evidência de que os fatores do hospedeiro, especialmente os efeitos do estresse (no sentido psicossocial mais amplo), podem ser decisivos na determinação de quem vai desenvolver

a úlcera duodenal. Percebe-se que a atividade da úlcera duodenal está correlacionada em um substancial número de casos com graus evidentes de fadiga e estresse emocional (incluindo-se fatores da personalidade, condição socioeconômica e eventos particulares).

Fatores emocionais têm indiscutível e importante relação com as crises ulcerosas em humanos (Tolentino e Faifer, 1994). A trilha cartesiana que tem orientado a medicina ocidental dedica muito pouco estudo a esses fatores fundamentais. Os autores pontuam que essa lamentável pobreza provavelmente se deve à imponderabilidade das emoções e ao despreparo do próprio médico na abordagem psicossomática do paciente e na visão biopsicossocial das doenças.

Leonhardt (1999) aponta que o aspecto biogenético da úlcera péptica superou a psicogenética. O autor propõe que a história da úlcera péptica pode ser dividida em quatro estágios, comparáveis às mudanças paradigmáticas de Kuhn, de acordo com o conceito prevalente da doença. No século XIX, consideravam-se fatores desencadeantes o trauma e as indiscrições dietárias, a hiperacidez e lesões circulatórias locais como fatores etiológicos e patogênicos. Em 1910 foi citada a instabilidade do sistema nervoso (vegetativo) autônomo, como fator adicional. Entretanto foi na década de 40, do século XX, que surgiu o conceito mais importante, quando esta foi classificada como uma doença psicossomática. Em meados dos anos 80, entretanto, um bacilo (*H. pylori*) foi demonstrado estar ligado à úlcera péptica e é atualmente considerado sua

principal causa. O autor conclui que úlcera péptica não é uma unidade monolítica, unicausal, porém uma síndrome com etiologia e patogênese complexas, sendo importante manter uma visão integral do indivíduo adoecido.

Segundo Collier (1999), a esofagite no homem é multifatorial, incluindo hérnia de hiato, refluxo ácido, perda da proteção da mucosa escamosa do esôfago, diminuição da eliminação de ácido no esôfago secundária à peristalse reduzida, redução do tamponamento pela saliva e mais raramente, refluxo biliar. Ainda que a hérnia de hiato seja muito comum, apenas 10% dos pacientes apresentam erosão esofágica. Os sintomas principais (pirose e flatulência) são extremamente comuns e são reportados entre 10 e 15% semanalmente, pela população adulta. Enquanto no cavalo a ulceração gástrica afeta o rendimento esportivo, isto aparentemente não ocorre no homem, tanto por ser bípede, quanto pelo fato da hérnia de hiato, junto com cálculos biliares e doença diverticular formar a “tríade da civilização ocidental”, condição clínica de pessoas de meia-idade e idosos, submetidos a um meio-ambiente não natural.

Estudos a respeito do efeito do estresse levantam a hipótese de que os fatores estressores, assim como algumas infecções podem induzir uma variedade de efeitos no sistema imune, inibindo sua habilidade em participar ativamente na resistência às infecções, efeito este que pode ser utilizado como modelo experimental (Ziebell et al., 1997)

Bateson (1979) descreveu os “períodos sensíveis” na vida do animal em

crescimento, estágios particulares do desenvolvimento, cujo mecanismo gerador pode permanecer em funcionamento pelo resto da vida. Dependendo da força do mecanismo protetor, as conseqüências da experiência inicial serão mais estáveis e o fenômeno do período sensível se torna mais robusto. Por outro lado, esses momentos podem representar um tempo de rápida organização, quando o animal em desenvolvimento torna-se mais facilmente desestabilizado pela privação ou insulto ambiental.

### **2.3.1 Estresse do desmame**

O comportamento materno-filial dos mamíferos passa por três fases, ocorrendo a primeira antes do parto, quando a fêmea se torna comportamental e fisiologicamente pronta para o filhote. A segunda fase é a lactação, quando o jovem depende da mãe para a sua sobrevivência e alimentação e utiliza seu tempo para dormir e explorar o ambiente. A terceira fase é o desmame, quando o jovem se torna independente da sua mãe. As fêmeas ungladas tornam-se menos tolerantes com relação à amamentação à medida que o filhote cresce e este comportamento é considerado o início do desmame. Nos eqüinos, isso é observado a partir da 24<sup>a</sup> semana de aleitamento (Carson e Wood-Gush, 1983) e completado a partir da 40<sup>a</sup> semana (Duncan et al., 1984), se a égua se encontra prenhe. Caso contrário, o potro continuará a mamar por um ano ou mais (Duncan, 1980). Esse laço materno-filial leva duas semanas para se consolidar e, segundo Houpt (2002), no decorrer desse período seria o momento

mais estressante para ambos, se ocorresse o desmame.

O potro inicia o consumo de alimento sólido a partir de 10 a 21 dias de vida, beliscando o alimento da mãe (Pugh e Williams, 1992).

Dentre os fatores predisponentes a ulceração gástrica em potros, um dos mais importantes é o estresse provocado pelo desmame. Dados em humanos mostram que o desconforto epigástrico está relacionado com o estresse (Orsini, 2000). Outros fatores também foram sugeridos como responsáveis: septicemia, uremia, coagulopatia e trauma ou cirurgia de grande porte (Geor e Papich, 1990; Murray, 1997). Furr e Murray (1990) observaram que potros nesta condição tendem a ulcerar na porção glandular da mucosa.

Apter e Householder (1996) consideram que o desmame é o período mais estressante da vida de um potro. Acesso ao leite da égua provê o potro tanto com nutrição física quanto com o senso de segurança emocional. A remoção desse acesso mediante o desmame pode resultar em estresse que predispõe o potro a doença, trauma e taxa reduzida de crescimento. Os autores recomendam não causar estresse adicional durante esse período, através da vacinação, castração ou marcação.

Kiley-Worthington (1987) considerou a separação da mãe com seu potro (ou de um companheiro de espécie) como situação de intensa frustração equivalente às condições de alimentação deficiente ou restrita, oferta de volumoso insuficiente e as restrições físicas, amarrado ou preso em baia. A não-ocorrência do desmame resulta na formação de grupos familiares

compostos pelas éguas e suas crias de diversas idades. Essa estrutura familiar é benéfica aos potros de dois a quatro anos de idade, que são disciplinados pelos mais velhos. A ligação com a mãe continua pela vida adulta, mesmo com os machos, se não houver um garanhão para expulsá-los do harém. A autora observa que potros que não sofrem o desmame levam metade do tempo para serem preparados para a primeira aula montada.

O deslocamento social, tal como o desmame, produz uma resposta de estresse caracterizada por um comportamento adaptativo que pode ser quantificado para acessar o grau do estresse. O estresse de desmame excessivo pode afetar o apetite, o metabolismo e a imunocompetência (Hoffman et al., 1995; Holland et al., 1996).

Em muitas espécies domésticas é prática habitual separar a mãe do filhote, seja numa idade precoce ou mesmo após o parto, sendo alguns animais mantidos em isolamento social. Há uma extensa coleção de dados relativa às conseqüências imediatas destas condições de manejo sobre o comportamento animal (Dantzer e Mormède, 1983). Em suínos, o estresse do desmame em criações comerciais é adicionado ao estresse da superpopulação e mistura de diversas leitegadas, além da falta de estímulos do ambiente, gerando padrões de comportamento anormal (manipulação do ventre com o focinho, manipulação de orelhas e caudas de outros leitões, mastigar a corrente e ficar sentado passivamente), que servem como indicadores comportamentais de estresse ( $P=0,001$ ).

Würbel e Stauffacher (1997) compararam camundongos desmamados no período padrão *versus* desmame precoce e encontraram uma correlação negativa entre o peso ao desmame e os níveis de corticosterona plasmática ( $P<0,001$ ). A diferença de peso persistiu na vida adulta, concluindo que o peso ao desmame reflete o desenvolvimento físico. Assim o desmame padronizado pode representar uma forma de desmame prematuro para indivíduos de baixo peso.

Pugh e Williams (1992) recomendam prevenir o estresse do desmame em potros, quando em situação de manada, removendo as fêmeas periódica e abruptamente e deixando os potros em ambiente familiar, além de sempre ter disponível volumoso de boa qualidade e sal mineral *ad libitum*.

Malinowski et al. (1990) compararam desmame individual *versus* em pares, concluindo que o desmame reduziu a resposta imune celular expressa como um índice de estímulo de proliferação mitogênica de linfócitos nas éguas e potros desmamados aos pares. Esta redução da resposta mitogênica linfocitária sobre o desmame ( $P=0,05$ ) pode estar ligada ao efeito imunossupressivo do aumento do cortisol circulante encontrado em ambos ( $P=0,05$ ). Disso, os autores concluem que o desmame em pares é mais estressante do que o desmame individual. A presença do par pode ser um fator de estresse em si, talvez devido à expressão de agressividade por parte do mais dominante.

Resultado similar foi obtido por Hoffman et al. (1995), ao encontrarem

escore etológico para medição de estresse mais baixo em potros desmamados individualmente que aos pares ( $P=0,008$ ), resultado esse correlacionado de forma positiva com as dosagens de cortisol sérico e de ACTH. Esses resultados também indicam que os potros lidam melhor com o estresse quando suplementados previamente com concentrado ( $P=0,15$ ).

Hoffman et al. (1995) concluem que potros desmamados em grupo, quando todas as éguas são removidas de vez, eram mais estressados do que aqueles em que poucas éguas eram removidas por vez. Potros se adaptaram melhor ao desmame quando mantidos no pasto do que quando desmamados em baias. A fonte de energia dietética pode influenciar a habilidade do potro em lidar com o desmame, havendo indicações de que uma alimentação com lípidos e fibra é mais vantajosa do que amido e açúcar.

Em cordeiros, entretanto, a separação gradual das suas mães induz distúrbios comportamentais, endócrinos e imunes, além de uma taxa reduzida de crescimento. Cordeiros submetidos a um desmame abrupto, pelo contrário, apresentaram respostas comparáveis aos que permaneceram com suas mães (Sevi et al., 2003).

Heleski et al. (2002) estudaram o comportamento e os marcadores fisiológicos de potros desmamados individualmente e estabulados e em baias fechadas *versus* potros desmamados em pequenos grupos e alojados em piquetes. Os potros estabulados, além do estresse do desmame, sofreram os efeitos do

isolamento social, que os impediu de executar seu comportamento social. Esses potros apresentaram um tempo significativo engajados em comportamento aberrante ( $P=0,03$ ). Os potros em piquete apresentaram uma grande variedade de comportamentos apropriados, sem comportamento aberrante, levando os autores a concluir que os animais criados em piquete possuíam melhor qualidade de vida.

McGee e Smith (2004) relatam que é prática comum separar a égua do potro durante a cobertura, momento este que leva o potro a um alto nível de estresse. Os autores verificaram que a simples presença de uma pessoa, próxima à porta da baia, é suficiente para reduzir ( $P<0,05$ ) o comportamento inadequado (agitação, rinchos e traumas contra a parede).

Griffin et al. (1996) encontraram uma correlação positiva ( $P<0,01$ ) entre as taxas de ganho de peso diário em potros antes do desmame e uma depressão do crescimento na primeira semana pós-desmame. Ainda, quanto mais rápida era a taxa de crescimento, maior era a depressão, a qual, entretanto, não está relacionada à idade do desmame ( $P>0,01$ ).

### **2.3.2 Transtorno por estresse pós-traumático**

O Transtorno por Estresse Pós-traumático (TEPT) ou ainda Alteração Permanente de Personalidade Após Experiência Catastrófica é definido pela American Psychiatric Association (1994) como “*transtornos de ansiedade que se manifestam pelo*

*desenvolvimento de sintomas característicos após um evento psicologicamente traumático que está fora da gama normal da experiência humana. Os sintomas incluem a revivência do evento traumático e o embotamento ou redução do envolvimento com o mundo externo”.*

Lerner (1996) comentando a mudança de enfoque sobre o trauma emocional dentro do espírito da época (*Zeitgeist*), define o estresse pós-traumático como “*uma experiência emocional, cognitiva e comportamental de pessoas que foram expostas ou presenciaram eventos que são extremos e de risco de vida*”. A essa definição Mitchell e Bray (1990) acrescentam os sintomas físicos, que vão de náusea e taquicardia ao estado de choque grave. Os sintomas cognitivos variam desde a diminuição da atenção até o estado de hiper-alerta, desorientação e confusão. Os emocionais são o pânico, choque, fobias e perda de controle e dentre os comportamentais ocorrem rompantes de agressividade, choro, violência e hiper-atividade.

A resposta ao estresse facilita a sobrevivência, entretanto resulta na formação de uma rede neuronal que facilita memórias intrusivas e sintomas associados à hipervigilância, tais como sobressalto, labilidade afetiva, ansiedade, disforia e hiperreatividade do sistema nervoso autônomo. Segundo Quevedo et al. (2003), esta rede neuronal pode ser ativada por estímulos sensoriais externos ou internos, como estímulos cognitivos, afetivos ou somáticos. No TEPT observa-se uma hiperfunção do eixo simpato-adrenal e uma redução concomitante da atividade hipotalâmico-hipófise-adrenal. O

excesso de catecolaminas, sem o aumento correspondente dos corticóides, promove uma consolidação excessiva das memórias traumáticas, enquanto que sintomas como o entorpecimento tem sido relacionado ao aumento dos opióides endógenos (Graeff, 2003, van Praag, 2004).

O TEPT afeta tanto a memória declarativa, em humanos, pela incapacidade de lembrar eventos quanto a memória processual responsável pela memória primitiva, capacidade de aprendizado e condicionamento (Elzinga e Bremner, 2002).

Crianças que experienciaram pânico e medo extremos durante o tsunami de 26 de dezembro de 2004 na Indonésia, tiveram um risco nove vezes maior de desenvolver TEPT, comparado às crianças de cidades próximas, que não tiveram esta experiência (Thienkrua et al., 2006). Da mesma forma, os efeitos crônicos do ataque terrorista de 11 de setembro de 2001 aos EEUU apresentam uma magnitude e duração maior do que a esperada elevando a taxa de suicídio tentado em 49%, pela sensação de risco constante e perda do sentimento de inviolabilidade. Assim, pela sua vulnerabilidade pessoal, os suicidas potenciais atuam como biosensores do grau de estresse na população (Starkman, 2006).

Estes incidentes críticos são acontecimentos extraordinários, desencadeadores de reações de estresse excepcionais (Flannery, 1999; Oliveira, 2000). E por definição, estão fora do controle da vítima. Desastres naturais como terremotos e outras experiências traumáticas promovem o aparecimento

de sintomas biocomportamentais de forma aguda ou crônica (Soldatos et al., 2006).

Causas comuns de TEPT são a exposição aos combates, ataque sexual, acidentes e confronto com doença potencialmente fatal. Mecanismos psicobiológicos do TEPT podem elevar o risco cardiovascular, induzindo a um reduzido estado sistêmico pró-inflamatório que possivelmente contribui para a instalação da doença arteroesclerótica (Känel et al., 2006).

Pacientes com TEPT evitam ativamente e passivamente os estímulos estressores e reduzem seu envolvimento em atividades antes consideradas agradáveis. São também caracterizados como irritáveis, em busca de riscos ou com comportamentos anti-sociais, diferindo de outros pacientes pela redução da sua expressão emocional mediante um entorpecimento emocional (Casada e Roache, 2006).

Raiva e hostilidade são atributos centrais dos pacientes que sofrem de TEPT, principalmente veteranos de guerra, seja pela redução do limiar de percepção das situações percebidas como de risco e ativando o modo biológico de sobrevivência, que consiste de fuga ou ataque ou pelo evitamento de sentimentos relacionados com o trauma, como o medo, que ativa as lembranças relativas ao trauma em si (Orth e Wieland, 2006).

Gatilhos de estresse por alterações adaptativas ou maladaptativas no sistema nervoso central, tais como exposição a estresse severo ou persistente na infância, incluindo a ativação do eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal, podem disparar

desordens comportamentais e serem fatores precipitantes dos transtornos por estresse pós-traumático em adultos (Chamas et al., 2004). É relatado ainda, desenvolvimento de TEPT em crianças que sofrem mordidas de cães (Peters et al., 2004).

Quando animais jovens são isolados, eles respondem com agressão (hiperalerta, luta e protesto), e se estes comportamentos não produzem os resultados esperados, passam para a retirada (paralisia, fuga ou desespero). Esses padrões de ataque ou protesto induzidos pelo medo servem para atrair proteção e se caracterizam por alta produção de neurohormônios e opióides endógenos (Van den Kolk, 1994). Em humanos, esses hormônios afetam a força com que a memória do fato é consolidada, mantendo-se uma vívida memória emocional, eventualmente para sempre.

Em coelhos foi comprovado o aumento da resposta da membrana nictitante, acompanhada pelo aumento da taxa de batimentos cardíacos, associada ao elevado nível de alerta ou ao estado de aversão situacional (Schreurs e Smith-Bell, 2005). Em ratos, foram estudados os distúrbios do sono, os quais, após TEPT adquiriram uma redução do sono REM<sup>5</sup>, seguido do aumento, sugerindo que os ratos apresentam uma resposta bifásica ao trauma (Pawlyk et al., 2005).

Em camundongos a indução do TEPT desencadeou um aumento de atividade e agressão extremamente não-usual no grupo. Observou-se também que a manutenção dos fatores que relembram

---

<sup>5</sup> *Rapid eye movement*: movimento rápido dos olhos, relacionado à fase de sono profundo com sonho.

o trauma contribui para a manutenção das perturbações comportamentais relacionadas ao medo (Pynoos et al., 1996).

Respostas semelhantes ao pânico podem ser disparadas mediante sensibilização com odores específicos, com uma contribuição gonadal a este comportamento, em ratos machos (Sorg et al., 2004). Entretanto, exposição desprotegida aos gatos, ou mesmo ao odor felino, induz comportamento ansioso de longa duração em ratos (Adamec et al., 2004), assim como em camundongos, sendo nestes, as fêmeas mais susceptíveis que os machos (Adamec et al., 2006).

Em macacos (*Macaca mulatta*) foi comprovado que a exposição a estresse na infância, produzido pela ausência precoce dos pais, atua influenciando alterações de atividade no eixo limbo-hipotalâmico-pituitário-adrenal após exposição ao etanol, com retroalimentação negativa, especialmente nas fêmeas (Barr et al., 2004).

O desmame artificial constitui significativa fonte de estresse psicológico e fisiológico para o potro e a égua (Turner et al., 2003), com pouca variação na taxa reduzida de cortisol entre os modelos de desmame abrupto ou gradual.

## **2.4 EXPRESSÃO SISTÊMICA DA GASTRITE**

Embora a gastrite, enquanto doença seja estudada como um problema local, a possibilidade de ela ser uma doença auto-imune torna necessária uma avaliação sistêmica do organismo. Esse

estudo global de interações locais do sistema imune não é novo. Jerne (1974) propôs a teoria da rede idiotípica, segundo a qual os anticorpos presentes em um dado organismo estariam com suas especificidades conectadas, sendo que a modificação em uma parte da população poderia ter um efeito sobre todos os outros componentes do sistema.

Esta forma integrada de trabalhar com sistema (Haury et al., 1994; Coutinho e Kazatchkine, 1995; Nobrega et al., 1998) demonstra a solidez do sistema imune e permite estudar alterações globais frente a uma patologia qualquer.

O estudo de anticorpos naturais tem sido uma ferramenta poderosa nesse tipo de abordagem (Janeway, 2001; Marchalonis et al., 2002). Esses anticorpos naturais ocorrem na ausência de imunização deliberada ou agressão microbiana. Na sua maioria são auto-reativos e participam da manutenção da homeostase imune em condições fisiológicas (Bayry et al., 2004). Podem tanto prevenir quanto produzir doenças autoimunes (Ochsenbein et al., 1999; Kazatchkine e Kaveri, 2001). Situações aparentemente locais, como um quadro de esquistossomose murina de sintomatologia hepatoesplênica, ao serem estudadas através da observação desses anticorpos, possibilitaram a identificação de padrões de reatividade que puderam ser correlacionados com a gravidade da doença (Vaz et al., 2001).

A utilização da técnica desenvolvida por Nóbrega tem permitido verificar padrões de comportamento das imunoglobulinas do soro que refletem modificações sistêmicas da imunidade. O que aponta para um valor preditivo da

utilização da técnica no estudo de algumas infecções, e doenças auto-imunes. Isto poderia torná-la um importante instrumento para a avaliação da eficácia de um determinado tratamento, assim como o acompanhamento de estados de tolerância ou quebra deste estado (Haury et al., 1994).

A técnica consiste em separar uma mistura antigênica por eletroforese e imobilizar os antígenos separados em uma membrana de nitrocelulose. Uma vez pronta essa membrana, os soros são colocados sobre ela utilizando-se um cassete especial de incubação que não permite a mistura entre os soros. Após a revelação, aparece um conjunto de bandas de reatividade nos locais onde os soros foram incubados.

Nóbrega e Haury criaram um “macro” para o programa de análise gráfica Igor<sup>®</sup>, que permite, a partir da imagem digitalizada da membrana, transformar o conjunto de bandas de reatividade do soro em uma curva de densidades ópticas (Nóbrega et al., 1993). Nessa curva, os picos correspondem às bandas de reatividade. Além disso, o programa é capaz de corrigir distorções na posição da curva, fruto de eventuais problemas na separação dos antígenos na eletroforese. Isso tornou possível fazer ajustes de curvas densitométricas para a comparação entre os soros. Permitiu também a construção de uma matriz numérica, em que uma linha corresponde a um soro, e cada coluna a uma banda de reatividade, sendo que, para uma dada posição dessa matriz, estava um valor representando a intensidade com que cada soro tinha reagido para cada banda. Dessa forma, esta técnica deixa de ser qualitativa e se

torna semiquantitativa, pois os valores das intensidades das bandas, em termos de densidade óptica, foram passíveis de comparação.

Uma aplicação clínica dessa nova metodologia de abordagem global do repertório é, ao detectar-se a diferença no perfil de reatividade na fase de remissão ou de atividade das doenças, acompanhar o perfil desses pacientes, a fim de detectar essas alterações precoces, indicativas de remissão ou atividade (Hecker, 1996).

Silva-Neto (2000), ao padronizar a técnica de Westernblot para a comparação dos repertórios de anticorpos no modelo eqüino, trabalhando com potros antes e após a ingestão de colostro, e testando-os frente a um painel de antígenos de *E. coli*, observou uma grande constância dos perfis de reatividade dos anticorpos IgM e IgG, entre as amostras dos pares égua-potro. Os resultados levaram o autor a pensar na existência de uma forte conservação dos fatores que determinam a restrição do repertório de anticorpos dentro da espécie eqüina, em especial para a IgM.

Em trabalho mais recente, Silva-Neto (2005) identificou a existência de padrões de reatividade das imunoglobulinas que podem ser associadas tanto a condições fisiológicas quanto patológicas. Identificou padrões de reatividade de IgM nas espécies eqüina e suína que tendem a se instalar cedo na lactação e perdurar até a vida adulta. Além disso, a identificação de uma grande estabilidade nas IgG de cavalos imunizados com venenos de serpentes e infectados com vírus da anemia

infeciosa, aponta para uma grande conservação e robustez dos mecanismos que geram esses perfis de reatividade.

Trabalhando com suínos foi possível inclusive comparação dos perfis de IgG de leitões amamentados por amas de leite, que se mostraram semelhantes aos perfis de seus irmãos legítimos e distintos dos seus irmãos adotivos (Silva-Neto, 2005).

Por outro lado, Silva-Neto (2005) observou modificações sofridas no soro de pacientes com malária, que apontam para um grande potencial da técnica em explorar padrões de comportamento imune como uma forma de avaliação prognóstica de doenças. E, até mesmo em doenças nas quais esse envolvimento é apenas uma suspeita, como no caso do soro de pacientes com miocardite.

Em experimentos com soros de camundongos infectados com *Leishmania major*, ficou claro que nos animais sensíveis à infecção, a partir de um determinado período, as modificações nos perfis de reatividade de IgG convergiam praticamente sempre para a mesma região dos gráficos bidimensionais, F1XF2, o que inclusive permitiu discriminar entre animais C57B16 e Balb/C infectados, no teste com extrato de *L. major* (Silva-Neto, 2005).

#### **2.4.1 Análise de Componentes Principais**

Nóbrega et al. (1993) introduziram a Análise de Componentes Principais na análise estatística do comportamento das curvas obtidas pelo *immunoblot*, o que torna possível não apenas comparar

os soros banda por banda de reatividade, mas comparar os soros usando todo o conjunto de bandas simultaneamente. Essa globalização da análise transformou esse *immunoblot* em um *immunoarray*, ou seja, em um teste no qual o que importa é a análise simultânea de todas as bandas em todas as curvas. A introdução dessa técnica permitiu observar fenômenos relacionados à coletividade das imunoglobulinas do soro e não apenas de natureza clonal.

Nesse método, o conjunto de vetores é aproximado por uma interpolação com um espaço dimensional de, no máximo, cinco ou seis dimensões, chamados eixos fatoriais. Desse modo, cada vetor de 52 coordenadas é reduzido a um vetor de cinco ou seis coordenadas, chamadas de fatores. Assim sendo, é possível comparar de maneira objetiva a similitude ou a divergência das amostras, analisando-se os dados nos planos fatoriais formados pelos 5 ou 6 eixos. Os eixos fatoriais representam uma média ponderada de cada seção de reatividade, algumas contribuindo mais que outras na definição de cada eixo. Essa ponderação é feita de maneira a selecionar as seções que são mais significativas para se diferenciar entre as amostras (Nóbrega et al., 1993).

Técnicas com a capacidade de observar de forma mais ampla um determinado fenômeno, utilizando ferramentas de análise estatística multivariada, são conhecidas na biologia molecular como análises de *arrays* (conjuntos, coleções) (Watson e Akil, 1999). Sua orientação básica é justamente observar simultaneamente um grande número de componentes do sistema e, a partir dessas informações, identificar padrões

de comportamento que a observação das partes isoladas não torna possível identificar. Entre esses, a análise de componentes principais é uma ferramenta poderosa utilizada por ecologistas, por exemplo, para interpretar dados amplos e complexos, referentes aos ecossistemas (Grotti et al., 1999; Mariottini e Leardi, 2000).

## 2.5 CONSIDERAÇÕES BIOÉTICAS

Singer (2004) comenta que o ser humano pode ser condicionado, mediante recompensas profissionais, a ignorar as questões éticas suscitadas pelos experimentos em animais, no que ele chama de cegueira ética condicionada. Essa questão poderia ter sido resolvida já no séc. XVIII (Inglaterra), quando Bentham (1789) defendeu magistralmente os animais, com o argumento de que não seria a ausência da razão, motivo para se fazer mau uso dos animais e, sim, que estes deviam ser tratados com respeito, porquanto sofrem (Sandøe et al., 1977).

Ainda, Singer (2004) explica que essa postura se deve ao especismo, preconceito ou atitude tendenciosa de alguém a favor dos interesses dos membros da sua própria espécie e contra as outras. Em contrapartida, o princípio básico, moral, da igualdade com relação aos animais, não requer tratamento igual ou idêntico, mas, sim, igual consideração. Essa igualdade se encontra na senciência, capacidade de sofrer e/ou experimentar prazer. A dor e o sofrimento são, em si mesmos, algo ruim e devem ser evitados ou minimizados, independentemente da raça, sexo ou espécie do ser que sofre.

Regan (2006) comenta sobre pessoas que desenvolveram a consciência animal, uma habilidade de penetrar no mistério da vida interior dos animais. E retorna ao universo moral, concluindo que, sem o respeito pelos direitos de alguém, não há respeito por quem os possui. O autor propõe olhar o mundo com olhos imparciais e perceber que os animais não são apenas nossos parentes biológicos, como também nossos semelhantes psicológicos. Como nós, esses animais estão no mundo, conscientes do mundo e conscientes do que acontece com eles.

Completando o tema da senciência, Brügger (2004) pontuou sobre o conhecimento refinado que os animais têm do seu meio-ambiente, inclusive do uso terapêutico que fazem das plantas, o que alguns consideram uma forma rudimentar de cultura. Adiante, a autora comenta que o nosso grau de ruptura com o entorno é cada vez mais profundo e que a exploração do homem, dos animais e da natureza andam juntos, no que denomina de cultura autofágica.

*Passim*, a autora reconhece que, com relação à pesquisa com animais, há estudos que se valem de métodos não invasivos (ultra-sonografia, p. ex) ou pouco invasivos (coleta de sangue), que podem ser feitas sem causar sofrimento aos animais ou no máximo algum desconforto e cujos dados podem ser muito úteis para todos.

Rassmunsen et al. (2003) destacam a importância das abordagens holísticas na formação dos estudantes de medicina veterinária, argumentando que as experiências devem ser benéficas para os animais, ou, no mínimo, neutras.

Todos os seres vivos são membros de comunidades ecológicas ligadas umas às outras numa rede de interdependências. É uma visão do mundo que reconhece o valor intrínseco da vida não-humana. Quando essa percepção ecológica profunda torna-se parte de nossa consciência cotidiana, emerge um sistema de ética radicalmente novo (Capra, 1999).

De acordo com Boff (2005), o bem-estar não pode ser apenas social, mas tem de ser também sociocósmico, atendendo aos demais seres da natureza, em oposição ao antropocentrismo, que considera que os outros seres apenas têm sentido quando ordenados ao ser humano. No primeiro caso, todos os seres são interdependentes e vivem dentro de uma teia intrincadíssima de relações, todas elas importantes. O autor propõe uma definição mais atual de ecologia, que seria “*a relação que todos os seres, vivos e inertes, naturais e culturais, têm entre si e com o seu meio ambiente*”.

Em oposição ao Sir Francis Bacon (1857/1984), que propagou o conceito do “*império do homem sobre as coisas*” e da necessidade de “*torná-lo senhor e proprietário da Natureza*” e de que “*a Ciência arranca sob tortura os segredos da Natureza*”, citado por Capra (1988), Schweitzer (1987), citados por Linzey (1991), expressa:

“A Natureza é para ser vivida e não para ser dominada. É uma teia complexa de relações orgânicas unidas em ciclos incessantes e milenares. A Natureza é um mistério para ser reverenciado, não um problema para ser resolvido. A Natureza é um cenário de que se tem de fazer parte, não um meio que se tem de dominar. O homem deve

conservar e proteger a Natureza como a sua própria vida”.

Dois verdadeiras revoluções atravessaram o século XX: a revolução quântica e a revolução informática, que levam a uma nova maneira de ver a Natureza. O estudo da Natureza viva pede uma nova metodologia – a metodologia transdisciplinar – que é diferente tanto da metodologia da ciência moderna como da metodologia da ciência antiga do ser. É a co-evolução do ser humano e do universo que pede uma nova metodologia e uma nova Filosofia da Natureza, mediadora privilegiada do diálogo entre todos os campos da Natureza. Essa nova definição repousa sobre duas afirmações: o ser humano pode estudar a Natureza através da ciência e a Natureza não pode ser concebida fora da sua relação com o ser humano (Nicolescu, 2005).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 ANIMAIS

Foram utilizados, neste experimento, 20 potros mestiços da raça Brasileiro de Hipismo com 160 dias de idade, criados na fazenda do CEDAF-UFV, próximo à cidade de Florestal (19°53'22''S e 44°25'57''O). Os potros eram produtos da estação de monta do ano 2003-2004 do Regimento de Cavalaria Alferes Tiradentes, da Polícia Militar de Minas Gerais, nascidos entre 24 de dezembro de 2003 e 05 de março de 2004. O grupo era homogêneo, constituído de 12 fêmeas e oito machos, sendo 85,00%

(17/20) deles produtos do mesmo garanhão.

Na fazenda, os potros eram criados dentro da proposta do Sistema Brasileiro de Produção de Equinos, exclusivamente a campo. O manejo era feito em Unidades de Serviço, permitindo a alimentação, a vistoria e a higiene diárias (Carvalho e Haddad, 1987).

Os potros ao pé, em aleitamento, sofreram o usual processo de desmame brusco, sendo apartados das suas mães aos cinco meses e três semanas de idade, objetivando esclarecer se iria ocorrer um estresse da deprivação maternal, e conseqüente perturbação emocional, incerteza e deslocamento social.

Um dia antes da primeira endoscopia, o potro e sua mãe eram trazidos por via rodoviária, em caminhão baú de transporte de equinos, da fazenda para o 3º Esquadrão, localizado na mesma área do *campus* da UFMG, ficando alojados em piquetes, e alimentados com concentrado comercial<sup>6</sup>, sal mineral<sup>7</sup> e feno de alfafa e gramínea, segundo recomendações do NRC (1989). Durante a noite, ambos eram recolhidos para a baía. Após o desmame, as éguas foram imediatamente embarcadas e transportadas para a fazenda, enquanto os potros permaneceram no piquete, durante o dia, sendo recolhidos à noite.

### 3.2 GRUPOS EXPERIMENTAIS

De acordo com o resultado da primeira endoscopia, os animais foram divididos em dois grupos, a saber:

- Grupo 1 (G1): animais sem lesões macroscópicas
- Grupo 2 (G2): animais com lesões macroscópicas

As amostras, para as diferentes análises realizadas, foram obtidas, tendo, como referência, os dias dos exames gastroscópicos e o desmame.

### 3.3 GASTROSCOPIA

Um cronograma de endoscopias foi desenvolvido, para que os exames ocorressem em datas próximas à idade real do potro, com pequenos ajustes, de forma que as endoscopias ocorriam sempre às terças ou quintas-feiras. Os exames, em cada potro, foram iniciados, em média, aos 158 dias (cinco meses e uma semana), com uma variação de dois a quatro dias, visando facilitar o transporte e o manejo dos animais, ao longo do experimento, como demonstrado na Fig. 1.

Os potros foram transportados uma hora antes da endoscopia, do 3º Esq para a Escola de Veterinária da UFMG, onde eram pesados, anotados os seus estados físicos, aberta uma ficha de avaliação gastroscópica individual e conduzidos à Clínica de Equinos, Setor de Videoendoscopia. Ao término do exame, retornavam ao Esquadrão.

Após a conclusão da última endoscopia, os potros foram levados à Fazenda do CEDAF. Dessa forma, havia constantemente uma população variável (entre quatro e sete potros e algumas éguas), entrando ou saindo da composição do lote.

<sup>6</sup> Equitage Potros, Guabi, Pará de Minas, Brasil.

<sup>7</sup> Centauro 80, Guabi, Pará de Minas, Brasil.

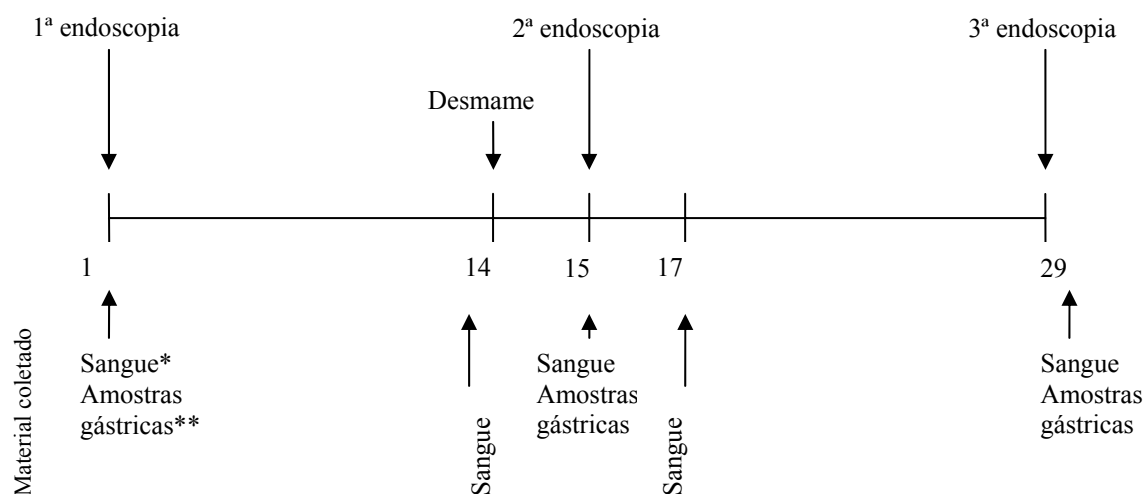


Figura 1: Fluxograma do experimento.

\*Sangue: hemograma, dosagens séricas de gastrina e perfil imunológico.

\*\*Amostras gástricas: teste de urease e histologia.

Dia 1: 14 dias antes do desmame; Dia 14: dia do desmame; Dia 15: um dia após o desmame; Dia 17: dois dias após o desmame; Dia 29: 14 dias após o desmame.

Foram realizadas três sessões de endoscopia em cada animal (Fig. 1). Foi utilizada uma sedação leve (Detomidina<sup>8</sup>, 10 µg/kg, IV). Antes da aplicação do sedativo, era colocado algodão nos ouvidos dos potros, e estes, deixados em baia escura para se tranquilizarem.

O preparo para a endoscopia constou de um jejum de sólidos de 24 horas e hídrico de 12 horas, com uso de flocina, para evitar a amamentação e/ou alimentação.

O exame gastroscópico foi realizado com endoscópio<sup>9</sup> de 165 cm de comprimento, com um diâmetro externo

de 13,5mm, acoplado a um sugador, um insuflador e fonte de luz<sup>10</sup>.

Ao fibroscópio adaptou-se uma câmara para capturar as imagens, que eram transmitidas a um sistema de vídeo, sendo todos os exames documentados e as imagens posteriormente digitalizadas.

O endoscópio lubrificado<sup>11</sup> foi inserido pelo turbinado nasal, sendo sua ponta direcionada dorsalmente para a aritenóide e cuidadosamente introduzida. Com o reflexo de deglutição, o aparelho foi conduzido para a região proximal do esfíncter cricofaríngeo, alcançando a porção distal do esôfago. Após a sua entrada no estômago, obteve-se uma visão geral do

<sup>8</sup> Dormossedan, Pfizer, Finlândia.

<sup>9</sup> Colonoscópio, Olympus, CF tipo EL/I, 165cm de comprimento, 13,5mm de diâmetro externo e 3,2mm de diâmetro interno, Japão.

<sup>10</sup> Fonte de luz, LS 277, Micronal, São Paulo, Brasil.

<sup>11</sup> Xilocaína gel, Astra Zeneca, Brasil.

órgão, quando então se procedeu à sua insuflação, até que as regiões aglandulares e glandulares da superfície gástrica passavam a ser observadas.

Procedia-se então à progressão do endoscópio pela curvatura maior do estômago até o antro pilórico. A partir desse ponto, as contrações normais do estômago foram geralmente suficientes para a sua chegada até o interior do duodeno. Após o exame do duodeno, o aparelho era tracionado para trás até o antro pilórico, quando se procedia a sua retroflexão para a observação da cárdia, da curvatura menor e do fundo. A sucção do ar era realizada após o término do exame, a fim de se evitarem cólicas subseqüentes ou ruptura gástrica. Entretanto, o exame do duodeno foi realizado em apenas três animais, devido ao comprimento insuficiente do endoscópio.

Após o exame, o aparelho era devidamente lavado com água e sabão siliconizado<sup>12</sup> externa e internamente, com a realização de aspirações de água, até a remoção completa do sabão.

Todas as observações foram anotadas em ficha própria e posteriormente classificadas de zero a quatro, de acordo com a severidade da lesão, como proposto por Andrews et al. (1999), em:

- **0 (zero):** o epitélio intacto, sem hiperemia ou hiperqueratose;
- **1:** a mucosa intacta, porém com áreas de hiperemia ou hiperqueratose (na mucosa escamosa);
- **2:** lesões pequenas, unitárias ou multifocais;

---

<sup>12</sup> Sabão siliconizado, Íris D'Água, Belo Horizonte, Brasil.

- **3:** lesão única, grande ou lesões multifocais;
- **4:** lesões extensas com áreas de aparente ulceração profunda.

### 3.3.1 Colheita dos fragmentos de estômago

Para a colheita das amostras gástricas, utilizou-se uma pinça tipo “boca de jacaré”<sup>13</sup>, introduzida pelo canal de biópsias do endoscópio.

Foram realizadas biópsias colhidas na mucosa escamosa (*margo plicatus*), do corpo e fundo gástrico e da mucosa glandular pilórica (antro) e no duodeno, além de biópsias de mucosa com anormalidade endoscópica de acordo com técnica descrita por Collier e Stoneham (1997) e Sherman (1994), sendo dois fragmentos para cada porção. As amostras foram estendidas sobre papel filtro, antes de serem colocadas em formalina tamponada a 10%, e devidamente identificadas. Após 24 horas, as amostras eram transferidas para álcool 70°, para posterior processamento.

O processamento histológico consistiu de técnica rotineira de inclusão em parafina. Foram feitas diversas colorações, sendo a de hematoxilina-eosina em todos os cortes histológicos. Ainda, foram realizadas colorações preliminares pelo Alcian Blue (pH 2,5) (AB pH2,5) em 3% das biópsias e pelo Periodic Acid Schiff (PAS), em 30% das biópsias, selecionadas aleatoriamente (Prophet et al., s/d). Após essa análise inicial, optou-se pelo uso da técnica conjunta de ambas as colorações (PAS-

---

<sup>13</sup> Pinça Wilson-Cook, tipo *alligator*, CBF – 2,5-230-s, Brasil.

AB pH 2,5), feita em todos os cortes histológicos, conforme proposto por Mowry (1956), citado por Michalany (1980). A finalidade do método está na coloração prévia das mucinas ácidas pelo alcian blue, deixando para o PAS somente as mucinas neutras, o que permite uma rápida diferenciação no exame histológico corrente (Michalany, 1980).

A classificação das lesões obedeceu às recomendações da tabela visual analógica proposta para a classificação das gastrites humanas (Dixon et al., 1996), levando em consideração a atividade, inflamação, atrofia e metaplasia. Cada parâmetro recebeu um escore de 0 a 3 (ausente, discreto, moderado, severo), podendo atingir um total de 12 pontos.

Criou-se uma classificação de uma a quatro cruzes para quantificar a intensidade da preservação do muco, nas colorações por PAS ou AB.

Também foi utilizado o método modificado de coloração por carbol-fuccina, descrito por Rocha et al. (1989) e o de coloração pela prata (Warthin Starry), descrito por Michalany (1980) em todas as biópsias, além da coloração de Giemsa, em sete cortes apenas, (ver em anexos), recomendadas para a identificação de *H. pylori*.

Realizaram-se microfotografias mediante captura assistida por computador em microscópio de luz<sup>14</sup>. As imagens, vistas em um monitor de computador, foram obtidas

digitalmente, mediante programa próprio<sup>15</sup>.

### 3.3.2 Teste de urease em agar gel

O teste de urease foi realizado segundo o protocolo descrito por Collier e Stoneham (1997). Foi utilizado kit comercial em gel<sup>16</sup>, que permite uma leitura rápida da atividade da urease de uma biópsia. Foram feitos dois testes por animal/endoscopia, com fragmentos do antro e da *margo plicato*.

As leituras foram realizadas a intervalos de 2 horas por 24 horas e, depois, a cada 12h, até 96h, e classificadas em positivas (viragem do teste) ou negativas.

## 3.4 EXAMES LABORATORIAIS

### 3.4.1 Hemograma

As amostras de sangue foram colhidas por venopunção central, através da veia jugular externa, após anti-sepsia, utilizando-se agulhas e frascos a vácuo<sup>17</sup>, contendo anticoagulante (ácido etileno diamino tetracético – EDTA), para a realização do hemograma. Foram colhidas uma amostra no dia da primeira endoscopia, uma no dia do desmame, uma no dia da segunda endoscopia, uma dois dias posterior à segunda endoscopia e uma no dia da terceira endoscopia, totalizando cinco amostras por potro (Fig. 1).

O hemograma constituiu-se do eritograma e leucograma. O

<sup>14</sup> Axiolab light microscope fitted with a 10x objective, Carl Zeiss, Alemanha.

<sup>15</sup> Kontron Elektronik, Carl Zeiss, Alemanha.

<sup>16</sup> Urease-Free®, Íris D'Água Ltda, Belo Horizonte, Brasil

<sup>17</sup> Vacutainer BD – Becton & Dickinson Ind. Cirúrgica Ltda., Brasil.

eritrograma incluiu a contagem total de eritrócitos, plaquetas e o número global de leucócitos, determinação do hematócrito, dosagem de hemoglobina e índices hematimétricos: volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), todas por meio de equipamento eletrônico<sup>18</sup>. A contagem global de leucócitos foi feita manualmente, repetida e confirmada. Os esfregaços foram corados segundo Jain (1993) sendo a contagem efetuada por microscopia de luz.

Os hemogramas foram efetuados para proceder ao acompanhamento clínico dos potros e avaliar o estresse.

### 3.4.2 Dosagem de gastrina

As amostras de sangue foram coletadas por meio de punção da veia jugular, em tubos a vácuo<sup>17</sup>, sem anticoagulante, após anti-sepsia de rotina com álcool iodado 2% e mantidas em temperatura ambiente, durante o processamento. Os frascos foram centrifugados a 1500 rpm por 5 min, procedendo-se à separação do soro em seis alíquotas de 3ml, etiquetadas e guardadas em dois pacotes plásticos, e congeladas a -20°C, até o seu processamento

A concentração sérica de gastrina foi determinada por kit de radioensaio<sup>19</sup>, conforme protocolo determinado por Smith et al. (1989). Sua dosagem teve como objetivo a possibilidade de avaliar o

estresse e/ou o quadro clínico de gastrite.

### 3.4.3 Definição dos perfis de reatividade imunológica

O processo utilizou amostras de soro dos potros e consistiu da realização de um Westernblot semiquantitativo – “*immunoarray*”. A concentração de imunoglobulinas da classe IgG foi realizada através do uso de ELISA de captura. O ensaio consistiu na determinação da concentração por uma dupla identificação com anticorpos específicos para a cadeia  $\gamma$  das imunoglobulinas eqüinas, com o objetivo de verificar atividade imunomediada da gastrite eqüina.

#### 3.4.3.1 Preparação dos extratos antigênicos – Tecidos autólogos e culturas bacterianas heterólogas

Amostras de fígado eqüino foram obtidas a partir de um animal hígido, sacrificado na Escola de Veterinária – UFMG, por estar com fratura não redutível.

As amostras de fígado foram imediatamente colocadas em um tubo Falcon de 50 ml, contendo 10,0 ml da solução de extração (ver em anexo) à temperatura de 4°C. Em seguida, a amostra foi triturada em um *potter*. O extrato resultante foi fervido durante 5 minutos, centrifugado a 3.000g por 10 minutos e então submetido à filtração em membrana de pré-filtro (diâmetro de poro 22  $\mu$ m). Após o término da preparação dos extratos, as amostras tiveram a sua concentração de proteínas determinada através da técnica de Lowry (1951) e aliqüotadas em microtubos contendo 400  $\mu$ l de amostra.

<sup>18</sup> Animal Blood Counter Vet – ABX, França.

<sup>19</sup> Kit radioimunológico de gastrina GammaDab®; DiaSorin, Stillwater, MN, USA.

O mesmo procedimento foi realizado com bactérias obtidas de culturas de *E. coli*.

Todas as seqüências a seguir foram executadas duas vezes, separadamente, uma com o extrato de *E. coli* e a segunda com o extrato hepático equino.

### 3.4.3.2 Eletroforese

A separação dos antígenos dos extratos foi realizada em um aparato de eletroforese vertical<sup>20</sup>, utilizando um espaçador de 1,0 mm. O gel de separação a 10 % de acrilamida, com 7,0 cm de altura, foi preparado a partir de solução comercial acrilamida/bis-acrilamida na relação 37,5:1<sup>21</sup>.

Sobre o gel de separação, foi feita a polimerização do gel de empilhamento com 1,0 cm de altura, sem a utilização de pentes.

Um volume de extrato antigênico compreendendo 600 µg de proteína foi diluído em tampão de amostra e depositado no topo do gel de empilhamento. A corrida eletroforética foi realizada sob condições desnaturantes e redutoras, sendo ajustada para uma diferença de potencial de 300 volts e corrente de 50 mA. A separação do extrato demorava em média 1h.

<sup>20</sup> Might Small SE-250, Hoefer/Pharmacia, Suíça.

<sup>21</sup> Solução comercial acrilamida/bis-acrilamida, Bio-Rad, USA.

### 3.4.3.3 Westernblot

Após a separação dos extratos por eletroforese, o conteúdo do gel era transferido para uma membrana de nitrocelulose com poros de 0,22 µm de diâmetro<sup>22</sup>, em um eletrotransferidor semiseco<sup>23</sup> sob uma corrente com intensidade de 0,8 mA/cm<sup>2</sup> e diferença de potencial de 50 V durante 80 minutos.

A montagem do aparato para eletrotransferência foi feita colocando-se cada um dos itens enumerados abaixo em seqüência:

- 6 folhas de papel de filtro 3 mm/Chr<sup>24</sup> embebidas no tampão de transferência “1” foram colocadas sobre o anodo.
- 3 folhas de papel de filtro 3 mm/Chr embebidas em tampão de transferência “2”.
- 1 membrana de nitrocelulose umedecida com água Milli-Q.
- O gel contendo os antígenos do extrato separado por SDS-PAGE.
- 9 folhas de papel de filtro 3 mm/Chr embebidas em tampão “3”.
- O circuito elétrico era fechado com a colocação de uma placa contendo o catodo sobre a última camada de papel.

<sup>22</sup> Membrana de nitrocelulose com poros de 0,22 µm de diâmetro, Schleicher e Schuell, Alemanha.

<sup>23</sup> Eletrotransferidor semi-seco, Hoefer/Pharmacia, Suíça.

<sup>24</sup> Papel de filtro 3 mm/Chr, Whatman, USA.

Após a eletrotransferência, as membranas foram bloqueadas com solução de PBS Tween<sup>25</sup> 0,2 %, durante 18 horas sob agitação lenta (5 a 6 oscilações/minuto). Uma vez constatada a qualidade do processo como um todo, passou-se à etapa seguinte, que consistia na incubação das amostras sobre as membranas.

#### **3.4.3.4 Incubação das amostras de soro**

A incubação das amostras de soro foi realizada à temperatura ambiente em um cassete de incubação<sup>26</sup>. Esse aparato permite a comparação simultânea de até 28 amostras sobre uma mesma membrana, de tal forma que não houvesse contato entre elas durante o período de incubação.

As amostras de soro foram colocadas nas canaletas de incubação na diluição de 1:40. O tempo de incubação das amostras foi de 4 horas para IgG. Durante este período, as placas foram mantidas sob agitação contínua (5 a 6 oscilações/minuto). Após a incubação, as amostras eram retiradas do cassete através de aspiração em bomba de vácuo. As membranas eram então lavadas com solução de PBS contendo Tween<sup>25</sup> a 0,2%. Foram efetuadas quatro lavagens por 10 segundos, seguidas de outras 4 por 5 minutos.

---

<sup>25</sup> Tampão fosfatase alcalina com detergente (ver em anexos).

<sup>26</sup> Cassete Miniblot System, Immunitics Inc., Cambridge, MA, USA.

#### **3.4.3.5 Incubação das membranas com anticorpos secundários.**

Para detecção de reatividade dos anticorpos da classe IgG, as membranas foram incubadas em uma solução de PBS contendo Tween<sup>25</sup> 0,2 % anticorpo específico para a cadeia  $\gamma$  equina marcado com peroxidase. A concentração foi determinada a partir da medida de absorbância, após o desenvolvimento de uma reação com cromógeno ortofenildilamida (OPD)<sup>27</sup> (Coligan et al., 1991), com a diluição de 1:1000.

#### **3.4.3.6 Revelação das reatividades**

As reatividades das imunoglobulinas foram identificadas através da utilização de um anticorpo secundário anti-IgG equino marcado com fosfatase alcalina e com o desenvolvimento de uma reação cromógena com a substância NBT/BCIP<sup>28</sup> (ver em anexos). O tempo de revelação foi de 5 minutos para as IgG. Após esse tempo, as membranas eram lavadas com água Milli-Q.

#### **3.4.3.7 Processamento da Imagem**

A análise densitométrica da imagem foi feita utilizando-se um uma versão modificada do macro originalmente desenvolvido por Nóbrega et al. (1993) para o programa Igor<sup>®29</sup>.

Inicialmente as imagens da membrana foram importadas para que o programa pudesse ler os graus de intensidade

---

<sup>27</sup> Orto Phenyl Dilamide, Sigma, USA.

<sup>28</sup> NBT/BCIP, Promega, Wiscosin, USA.

<sup>29</sup> Programa Igor<sup>®</sup>, Wavemetrics, Lake Oswego, OR, USA

óptica, tanto dos perfis de reatividade, quanto da migração protéica.

A partir dessa etapa, foram montadas curvas nas quais as coordenadas correspondiam à densidade óptica e as abscissas à distância de migração. De posse dessas curvas densitométricas, o programa realizava a correção de distorções de posição provocadas pela migração irregular durante a eletroforese.

Com as curvas re-escaladas, foi possível realizar a comparação do comportamento das reatividades dos soros através da análise das curvas densitométricas correspondentes.

O primeiro passo dessa etapa foi a divisão das curvas em seções de reatividade. Isso foi feito comparando as curvas com a imagem da membrana revelada para reatividade. As seções na curva foram identificadas a partir da presença de bandas de reatividade na imagem da membrana.

A seguir, foi realizado o cálculo do ponto máximo correspondente a cada seção de todas as curvas densitométricas. O resultado foi a construção de uma matriz contendo o ponto máximo de cada seção, denominada de "*peak values*", nas quais as linhas correspondem as diferentes seções encontradas e as colunas correspondem aos soros que originaram as curvas densitométricas.

A digitalização da imagem das membranas foi feita em um "*scanner*"<sup>30</sup>, ajustada para definição de 600 dpi e salvas no formato TIFF.

Após a captura das imagens das reatividades, a membrana era lavada duas vezes com água Milli-Q e submetida à incubação em uma solução de ouro coloidal<sup>31</sup> durante 4 horas, para a revelação do perfil de separação das proteínas presentes entre os espaços de incubação dos soros.

#### **3.4.3.8 Programa de tratamento de curvas**

Na realização desse trabalho, o soro foi considerado uma população complexa de imunoglobulinas, cujas modificações não foram testadas frente a um antígeno purificado, mas sim contra um amplo painel de antígenos. Ao invés de se buscar um antígeno purificado e colocá-lo imobilizado em uma placa de ELISA, a técnica utilizou extratos brutos de tecidos e culturas microbianas. Esses extratos fornecem, após a separação por eletroforese, um painel extremamente amplo de antígenos presentes em bandas de proteínas, facilmente identificáveis na coloração por azul de Coomassie. A partir do momento em que um soro é testado frente a este painel de antígenos, aparece um conjunto de bandas de reatividade, denominado perfil de reatividade.

Graças à utilização do macro gerado por Nóbrega et al.(1993), que permite a correção de distorções na corrida eletroforética e o cálculo da altura dos picos da curva densitométrica, é possível construir uma matriz amostral onde cada coluna corresponde a um tipo de banda e cada linha corresponde a um dos soros testados. Nessa matriz, os tipos de bandas representam as

<sup>30</sup> Scanner, Apple – Color One, USA.

<sup>31</sup> Protogold, British Biocell, Reino Unido.

variáveis que estão sendo observadas, e as linhas as diferentes observações para a dada variável.

É evidente que, em função da grande quantidade de dados que caracteriza essa matriz, a visualização da informação relevante deve ser obtida em termos de descritores que sumariem a variabilidade expressa na matriz de dados. Nesse caso, como o objetivo da técnica é a análise global do comportamento dos perfis, a covariância se torna um descritor extremamente importante. A partir da covariância, é possível obter o grau de associação linear entre as variáveis. Nesse caso em particular, o grau de associação linear entre as diferentes bandas de reatividade tornou possível comparar os soros simultaneamente perante o conjunto de bandas.

### **3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

O experimento foi delineado em um esquema fatorial 2x5 (dois grupos – com e sem lesão à primeira endoscopia) com relação aos cinco tempos para colheita das amostras, referentes à colheita de sangue (hemograma e gastrina) e 2x3 com relação às análises histológicas, imunológicas e endoscópicas.

Realizou-se a análise de variância e a comparação das médias pelo teste de Student Newman Keuls (SNK). Para as variáveis não paramétricas utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis.

As lesões gástricas, tanto macroscópicas quanto histológicas, foram agrupadas, de acordo com o escore, endoscopia e grupo experimental, sendo realizada a análise não paramétrica e o teste de

Wilcoxon (para comparação entre grupos) e Kruskal-Wallis para as comparações dentro do grupo, entre endoscopias.

Para a comparação do peso, entre grupos e entre sexos, utilizou-se o teste T de Student.

Nas comparações do teste de urease utilizou-se o teste de Qui-quadrado.

Para a análise das curvas geradas, utilizou-se o programa de tratamento de curvas, denominado IGOR<sup>®</sup>. O procedimento consiste na definição de picos de reatividade em todas as curvas correspondentes aos soros, e a comparação por análise multivariada é denominada Análise de Componentes Principais – PCA (Hecker, 1996). A técnica foi utilizada como procedimento para descrever a estrutura de covariância das bandas de reatividade para comparação das amostras dos soros dos potros sadios antes do desmame contra o grupo que já se encontrava doente antes deste, sendo uma forma de avaliar o eventual envolvimento imunológico no desenvolvimento da gastrite. A versão do IGOR<sup>®</sup> utilizada também continha macro capaz de realizar a análise estatística sem que houvesse a necessidade de exportação dos dados para outro programa.

## **4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1 AVALIAÇÃO CLÍNICA**

#### **4.1.1. Achados clínicos**

Fatores clínicos nos animais do Grupo 2 (G2), tais como verminose (9,09% - 1/11), doença respiratória (27,27% - 3/11) e baixo escore corporal (27,27% -

3/11) foram observados nos potros que apresentavam lesões já na primeira endoscopia. O baixo escore corporal se devia ao suprimento escasso de leite, por éguas que se encontravam doentes (doença respiratória) ou muito apáticas no decorrer do puerpério e lactação. Animais de temperamento agressivo ou nervoso também apresentaram lesões prévias ao desmame (27,27% - 3/11). Apenas um animal (11,00% - 1/9) do Grupo 1 (G1) apresentou doença respiratória.

Sintomas clínicos, tais como halitose intensa, sialorréia e principalmente o bruxismo, acompanharam os quadros endoscópicos de lesão gástrica (22% no G1 e 9,0% no G2), principalmente após o desmame, seja imediato ou tardio (55% no G1 e 54,6% G2).

O G1 apresentou peso bastante uniforme, de  $151 \pm 14$ kg, enquanto o peso do G2 oscilou, sendo em média  $142,27 \pm 33,84$ kg ( $P=0,0560$ ), não diferindo entre machos e fêmeas ( $P>0,05$ ). Foi surpreendente constatar a ausência de ganho de peso dos potros no decorrer de um mês de observação, sempre pesados nos dias das endoscopias (Fig.2), o que corrobora os achados de Terlouw et al. (1997), Murray (1992), Griffin et al. (1996), Würbel e Stauffacher (1997). É possível que este fato se devesse ao quadro clínico gástrico, possivelmente doloroso, reduzindo o apetite (Hoffman et al., 1995; Holland et al., 1996). Isto significa que os potros perdem, pelo menos, trinta dias de crescimento durante o seu primeiro ano de vida, o qual responde por 60% da sua estatura final.

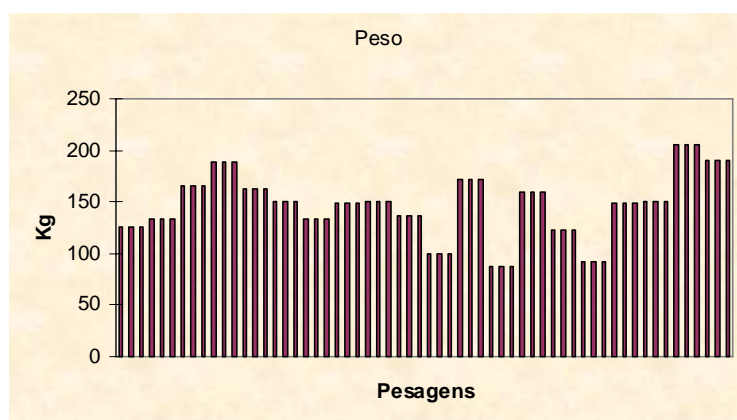


Figura 2: Distribuição do peso corporal durante o período de endoscopias em potros submetidos ao estresse do desmame.

A clínica da gastrite em potros difere dos cavalos adultos (Campbell-Thompson e Merritt, 1990; Murray, 1991a; Murray, 1997; Andrews e

Nadeau, 1999) e pode sofrer complicações, por obstrução, perfuração, aspiração ou hemorragia (Traub-Dargatz et al., 1985; Fiske, 1986; Murray et al., 1988; Madigan, 1994; Perkins e Vasey, 1994; King,

1996). De maneira geral, os potros, no presente trabalho, apresentaram desconforto gástrico intenso, impedindo, possivelmente, o seu desenvolvimento físico. Foram submetidos, desde cedo a um manejo tradicional, reconhecidamente estressor, constituído de parcelamento alimentar, à base de feno de gramíneas e outros alimentos processados, em contraste com o pastejo natural. Isso pode ter contribuído para a instalação da lesão, assim como procedimentos de manejo, tais como transporte, confinamento, marcação, entre outros, confirmando os dados dos autores consultados (Andrews et al., 1999; Murray, 1999; Buchanan e Andrews, 2003).

#### **4.1.2 Achados endoscópicos**

As endoscopias foram realizadas nos dias 1, 15 e 29, ou seja, duas semanas antes do desmame (dia 1), um dia após o desmame (dia 15) e duas semanas (dia 29) após o desmame. Para executar a endoscopia, foi necessária uma equipe constituída de sete a oito pessoas, sendo quatro para a contenção adequada dos potros, uma para o controle do cabo de fibras ópticas e seu posicionamento, uma para a condução da endoscopia, outra para condução da pinça de biópsia e controle do vídeo e, finalmente, uma pessoa para anotar os resultados, receber e fixar as biópsias e preparar os testes de urease.

O aparelho utilizado, um colonoscópio humano de 165 cm, adaptado a um sistema de vídeo, permitiu explorar toda a câmara gástrica, sendo a visualização ampliada pela videoendoscopia (Brown et al., 1985; Adamson e Murray, 1990; Murray, 1990, 1991a; Lamar, 1990; White, 1990; Leitão e Soares, 2000).

Apesar de a literatura citar a presença de quatro pessoas: o endoscopista, que controla o aparelho, a pessoa responsável pela introdução e manutenção do endoscópio em posição e duas pessoas para conter o potro (Adamson e Murray, 1990; Dearo et al., 1998), na prática observou-se serem necessárias quatro pessoas apenas para conter o potro, sendo este fator de grande complexidade prática. A agitação dos potros dificultou a conclusão do exame, ocorrendo a impossibilidade de colher algumas biópsias em 6,0% (3/50) dos casos no G1 e 21,82% (12/55) dos casos no G2, como também observado por Cudd e Wilson (1990).

São citados diversos produtos para a contenção química do potro, com resultados variáveis (Murray et al., 1988; Murray, 1989a,b; Cudd e Wilson, 1990; Murray et al., 1990a; Murray et al., 1990b; Murray, 1992b; Murray et al., 1996; Dearo et al., 1998). A xilazina mostrou-se ineficiente, apresentando efeito contrário, de excitação, em alguns animais. A sedação foi alterada para Detomidina, na dose de 20 µg/kg, IV que se mostrou inadequada, pois os potros ficavam muito sedados e perdiam a capacidade de se manterem em pé, sofrendo quedas bruscas, geralmente precedidas de empinamento e/ou boletamento, com risco de produzir acidentes, tanto para o animal, quanto para o aparelho. Por esse motivo, a dose foi reduzida para 10 µg/kg, IV, com resultados satisfatórios (Vatistas et al., 1994; Vatistas et al., 1999b).

Os resultados endoscópicos foram variáveis. Nenhuma lesão macroscópica à primeira endoscopia foi observada em 45,00% (9/20) dos potros. Entretanto, à

segunda endoscopia, ou seja, 24h após o desmame, 95,00% (19/20) apresentaram lesões macroscópicas. Já na terceira endoscopia, 100,00% (20/20) dos potros apresentaram algum grau de lesão macroscópica. Dessa forma, optou-se por proceder todas as análises do experimento, de acordo com os achados à primeira endoscopia, sendo considerados os animais do Grupo 1 (G1) aqueles sem lesão macroscópica e os do Grupo 2 (G2) aqueles com lesão macroscópica.

Os resultados dos achados endoscópicos, de acordo com o escore proposto por Andrews et al., (1999), encontram-se na Tab. 4, classificados por grupo e por endoscopia. Os animais do G1 evoluíram de um aspecto de mucosas visíveis integras inclusive cárdia, fundo, corpo e *margo plicatus* para pontos de hemorragia ao longo de toda a *margo plicatus*, eventualmente na curvatura menor e/ou maior do estômago, com enantema e edema, estando a mucosa aglandular com áreas

de erosão multifocal, úlceras, única ou múltiplas, eventualmente coalescentes na *margo plicatus* e na porção escamosa da curvatura menor, além de hiperqueratose discreta. Assim, do grau 0, os potros evoluíram para o grau 2 (75,00%) e grau 3 (27,30%) e se mantiveram no grau 2 (100,00%), à terceira endoscopia (Fig. 3).

Nos animais do G2, observaram-se de início lesões discretas focais, tais como edema e enantema, tanto da porção glandular quanto aglandular, petéquias e pontos de sangramento ao longo da *margo plicatus*, inclusive na região da cárdia, em 45,5% dos casos. Essas lesões evoluíam, após o desmame, para áreas de erosão ao longo de toda a *margo plicatus*, e na curvatura menor e/ou maior, com focos de hemorragia e espessamento da camada queratinizada (hiperqueratose), seguindo a evolução para a reparação, sendo evidenciadas úlceras com fibrina ou evoluindo para a cicatrização, observadas à terceira endoscopia (Fig. 4).

Tabela 4: Distribuição dos achados endoscópicos (%-n), de acordo com o escore da lesão, por endoscopia e por grupo, em potros submetidos ao estresse do desmame.

Grau de lesão	Endoscopia 1		Endoscopia 2		Endoscopia 3		Total
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 1	Grupo 2	
0	100,0 (9/9)	0,0 (0/11)	0,0 (0/8)	9,1 (1/11)	0,0 (0/9)	0,0 (0/11)	16,9 (10/59)
1	0,0 (0/9)	45,5 (5/11)	0,0 (0/8)	18,2 (2/11)	0,0 (0/9)	9,1 (1/11)	13,6 (8/59)
2	0,0 (0/9)	18,2 (2/11)	75,0 (6/8)	45,5 (5/11)	100 (9/9)	54,6 (6/11)	47,5 (28/59)
3	0,0 (0/9)	27,3 (3/11)	25,0 (2/8)	27,3 (3/11)	0,0 (0/9)	27,3 (3/11)	18,6 (11/59)
4	0,0 (0/9)	9,1 (1/11)	0,0 (0/8)	0,0 (0/11)	0,0 (0/9)	9,1 (1/11)	3,4 (2/59)

**0 (zero):** o epitélio intacto, sem hiperemia ou hiperqueratose;

**1:** a mucosa intacta, porém com áreas de hiperemia ou hiperqueratose (na mucosa escamosa);

**2:** lesões pequenas, unitárias ou multifocais;

**3:** lesão única, grande ou lesões multifocais

**4:** lesões extensas com áreas de aparente ulceração profunda.

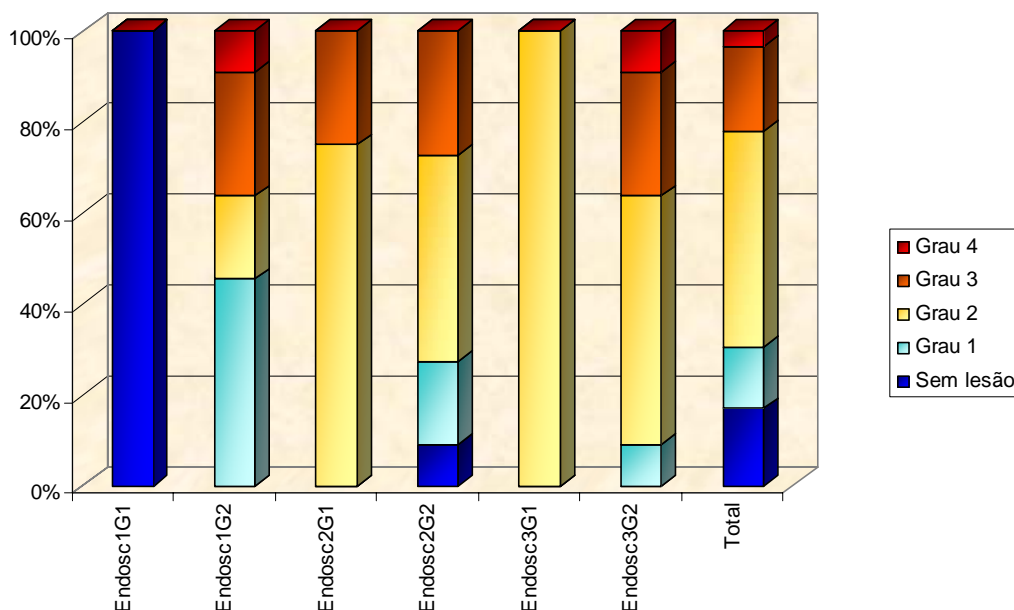


Figura 3: Distribuição dos achados endoscópicos, de acordo com o grupo e endoscopia, em potros submetidos ao estresse do desmame.

Endosc1: endoscopia 1; Endosc2: endoscopia 2; Endosc3: endoscopia 3; G1: grupo 1; G2: grupo 2.

**0 (zero):** o epitélio intacto, sem hiperemia ou hiperqueratose;

**1:** a mucosa intacta, porém com áreas de hiperemia ou hiperqueratose (na mucosa escamosa);

**2:** lesões pequenas, unitárias ou multifocais;

**3:** lesão única, grande ou lesões multifocais

**4:** lesões extensas com áreas de aparente ulceração profunda.

Entretanto, 9,1% dos animais apresentaram lesões graves à primeira e terceira endoscopia.

O estresse do desmame, associado às mudanças no manejo dos potros, contribuiu para o aumento do número e gravidade das lesões macroscópicas, tanto nos animais do G1 quanto do G2, à segunda e terceira endoscopias. Assim, no G2, à primeira endoscopia, as lesões foram distribuídas pelos grau 1 (45,4%), grau 2 (18,2%), grau 3 (27,3%) e grau 4 (9,1%). Após o desmame, as porcentagens dos graus 3 e 4 se elevaram, ficando a distribuição da seguinte forma: grau 1 (9,1%), grau 2 (18,2%), grau 3 (45,5%) e grau 4

(27,3%). À terceira endoscopia, ocorreu um retorno semelhante às porcentagens iniciais: grau 1 (9,1%), grau 2 (54,6%), grau 3 (27,3%) e grau 4 (9,1%). Inicialmente foi planejado colher biópsias do duodeno também, porém o garanhão utilizado nesta estação de monta imprimiu uma estatura elevada muito precoce aos potros, e o comprimento do endoscópio não foi suficiente para alcançar ou ultrapassar o piloro, exceto em três potros de estatura menor, quando se optou por não processar essas biópsias.

Com alguma frequência, as biópsias sofreram algum grau de esmagamento,

observado facilmente nas lâminas, como descrito por Murray et al. (2004).

Com relação ao tamanho, as erosões e úlceras não ultrapassavam 5 mm de diâmetro, mensuradas com a pinça de biópsia aberta, apesar de ocorrerem algumas raras coalescências. As úlceras visualizadas corresponderam em aspecto ao que é descrito na literatura, tanto humana quanto veterinária (Andrews et al., 1999; Eisig et al.,

2000; Leitão e Soares, 2000; Meirelles Filho e André, 2000).

Quando se comparou o escore obtido à macroscopia, de acordo com o proposto por Andrews et al. (1999), foram detectadas diferenças ( $P < 0,005$ ) à primeira endoscopia entre o G1 e G2 e, dentro do grupo quando se comparou a primeira endoscopia com a segunda e a terceira, no G1.

Tabela 5: Valores médios ( $\pm$  desvio padrão) do escore obtido pela observação gástrica macroscópica, de acordo com a endoscopia e o grupo, em potros submetidos ao estresse do desmame.

Endoscopia	Grupo 1	Grupo 2
1	0,00 $\pm$ 0,00 <sup>ba</sup>	2,00 $\pm$ 1,10 <sup>b</sup>
2	2,25 $\pm$ 0,46 <sup>A</sup>	1,91 $\pm$ 0,94
3	2,00 $\pm$ 0,00 <sup>A</sup>	2,36 $\pm$ 0,81

<sup>AB</sup>Médias seguidas por letras maiúsculas, na mesma coluna, diferem ( $P < 0,05$ )

<sup>ab</sup>Médias seguidas por letras minúsculas, na mesma linha, diferem ( $P < 0,05$ )

Grupo 1: animais sem lesões gástricas macroscópicas à primeira endoscopia; Grupo 2: animais com lesões gástricas macroscópicas à primeira endoscopia. Endoscopia 1: 14 dias antes do desmame; Endoscopia 2: um dia após o desmame; Endoscopia 3: 14 dias após o desmame.

A classificação endoscópica das lesões, proposta pelo EGUS (Andrews et al., 1999) foi considerada satisfatória, sendo uma evolução das classificações anteriores descritas por Murray et al. (1996); Mac Allister et al. (1997); Vatistas e Snyder (1997).

As úlceras e erosões ocorreram ao longo da *margo plicatus* e ao redor da cárdia, atingindo majoritariamente a porção aglandular dessa transição exatamente como descrito por diversos autores consultados (Murray et al., 1988; Murray et al., 1988; Murray et al., 1990b; Johnson et al., 1994; Collier e Stoneham, 1997; Orsini, 2000), porém não foram visualizadas úlceras na porção glandular, ainda que tenham sido observados edema e enantema nessa região.

O epitélio estratificado escamoso da porção aglandular do estômago equino é considerado uma localização preferencial para a instalação de erosões, tanto por corresponder ao nível dos alimentos em suspensão, quanto pela aparente falta de recursos em termos de mecanismos de defesa (Argenzio, 1999; Murray, 1997; 1999a,b), como a produção de muco e bicarbonato (MacAllister et al., 1997). Nos potros neonatos, o epitélio escamoso sofre profundas alterações (Murray, 1991b; 1999; Murray e Mahaffey, 1993) e poucas horas de jejum, na redução do pH gástrico, permite que sais biliares penetrem a mucosa, causando edema, inflamação e ulceração (Argenzio e Eisemann, 1996; Lang et al., 1998; Berschneider et al.,

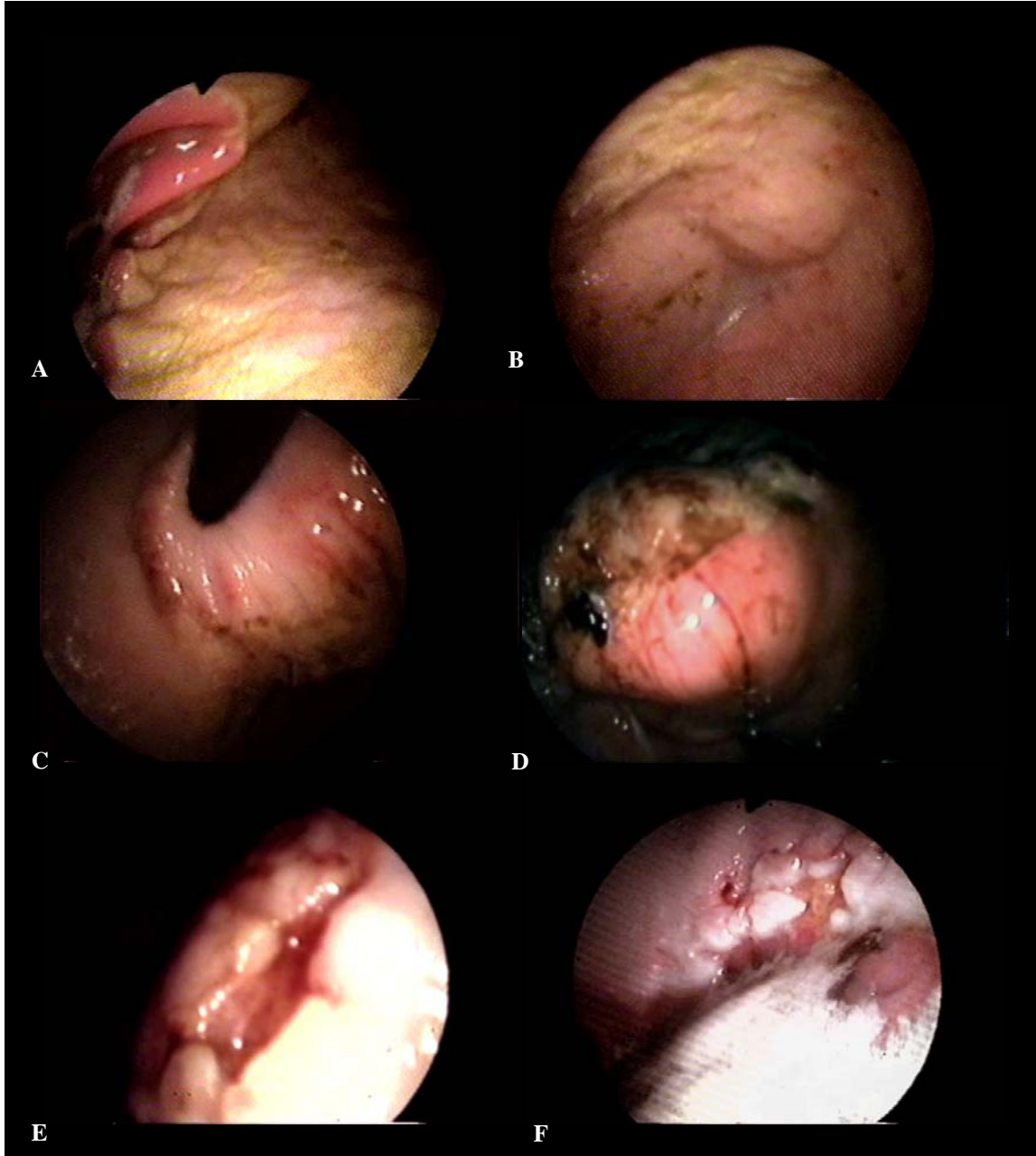


Figura 4: Aspecto das lesões observadas à endoscopia. A) Grau 1: hiperemia de mucosas e hiperqueratose do epitélio não glandular; B) Grau 2: discretas erosões ao longo da *margo plicatus*; C) Grau 2: erosões na região da cárdia; D) Graus 2 e 3 ao longo da *margo plicatus*; notar coágulo aderido à lesão; E) Grau 4: úlcera profunda ao longo da *margo plicatus*; F) Úlcera em forma de estrela, indicando processo de cicatrização.



1999). Estes fatos, entretanto, não explicam porque apenas a faixa ao longo da transição, e não todo o fundo gástrico, é acometida pelas erosões e úlceras. Pode-se aventar a hipótese de que é exatamente pelo fato de ser um ponto onde a mucosa aglandular termina de forma abrupta e se inicia a porção glandular, permitindo aos fatores agressores adentrar, através do espaço existente, entre estas duas estruturas tão distintas.

Apesar de os eqüinos possuírem diversos mecanismos de reparação (Geor e Papich, 1990; Murray, 1999a; Andrews et al., 1999), é possível que, na idade precoce, esses mecanismos ainda não estejam plenamente desenvolvidos, pois à terceira endoscopia, duas semanas após a agressão aguda infligida pelo estresse do desmame, as lesões ainda se encontravam em processo de cicatrização.

Nenhum potro apresentou desconforto gástrico durante a insuflação de ar. A aspiração do conteúdo gástrico aparentemente é bastante desconfortável para o potro, que se torna agitado, podendo, nesse momento, ocorrerem acidentes diversos, tanto para o paciente e para a equipe quanto para o aparelho, pois, dado o seu grande comprimento, é difícil sua retirada rápida. Alguns potros se agitaram também durante a sucção do ar, em procedimento para conclusão da endoscopia.

A presença de alimentos, tanto por quebra do jejum (eventualmente, por remoção da focinheira pelo potro) quanto por não ter ocorrido o esvaziamento gástrico foi achado freqüente (11,7% das endoscopias),

principalmente após o desmame. Também foi freqüente a presença de líquidos (13,34% das endoscopias), composto de suco gástrico e principalmente saliva, que cobriam a região antral e pilórica, o que impediu, em alguns casos, a coleta de biópsias dessas regiões, principalmente após o desmame. Por esse motivo, a partir do quarto animal, o período de jejum foi estendido para 24 horas de duração.

A literatura recomenda um jejum de poucas horas para potros apenas lactentes e de 06 a 12 horas para potros maiores (Campbell-Thompson e Merritt, 1990; Cudd e Wilson, 1990; Murray et al., 1996), enquanto Dearo et al. (1998) recomendam até 16 horas. Para cavalos adultos são recomendadas de 12 a 48h de jejum (Brown et al. 1985; Adamson e Murray, 1990; White, 1990; Vatistas et al., 1999b). Observou-se na prática que nem mesmo um jejum de 24 horas foi suficiente para o esvaziamento completo do estômago, em alguns animais.

Alguns potros secretam uma grande quantidade de saliva e suco gástrico, havendo, portanto, na região antral, quase sempre, um acúmulo de líquido, o que tornou necessária a sua aspiração (Brown et al., 1985; Adamson e Murray, 1990; Campbell-Thompson e Merritt, 1990; Cudd e Wilson, 1990; Vatistas et al. 1999b), para visualizar esta porção e conseqüentemente o piloro. Curiosamente, mesmo a aplicação endovenosa de modulador de peristaltismo gastrintestinal, como a bromoprida<sup>32</sup>, uma a duas horas antes da endoscopia, não se mostrou útil na

---

<sup>32</sup> Bromoprida, Digesan<sup>®</sup>, Sanofi-Synthelabo, Brasil.

produção deste esvaziamento gástrico. Como os potros fizeram uso de focinheira, para não ingerirem cama, é possível que esta tenha atuado como um fator extra de estresse, aumentando a secreção gástrica como sugerido por Adamson e Murray (1990).

É provável que o líquido presente tenha sido consequência da homeostasia, ainda incompleta ao desmame (Kitchen et al., 1998; Murray, 1999), assim como pela desmotilidade gástrica, comum nesta idade (Campbell-Thompson e Merritt, 1988; Murray, 1989a; Geor e Papich, 1990).

Ainda que a prevalência da gastrite e das ulcerações gástricas seja elevada em potros (Traub-Dargatz et al., 1983; Becht e Byars, 1986, Hammond et al., 1986; Murray et al., 1990; Johnson et al., 1994 citado por MacAllister, 1999; Vatistas et al., 1994; Murray et al., 1996; Murray, 1997; Andrews et al., 1999; Sandin et al., 2000), é bastante provável que uma considerável parcela não seja reconhecida como uma entidade clínica carente de tratamento. Nas condições do presente trabalho, todos os potros desenvolveram e/ou agravaram a gastrite após o desmame, com evidente queda na qualidade de vida. Pelo mesmo motivo, apesar de haver um discreto predomínio de fêmeas, não foi possível observar diferenças entre gêneros ( $P>0,05$ ). Vatistas et al., (1999b), Sandin et al. (2000) e Rabuffo et al. (2002) em seus respectivos estudos, não encontraram maior prevalência de úlcera em potros do sexo feminino ou masculino.

#### 4.1.3 Teste de urease

Foram feitos 114 análises para urease, que resultaram negativas em 38,60% (22/57) dos casos de biópsia de *margo plicatus* e 35,10% (20/57) dos casos de biópsia de antro. Ao final de 96 horas à primeira endoscopia, positivaram 55,56% (5/9) das biópsias de *margo plicatus* no G1 e 36,36% (4/11) no G2. Na mesma endoscopia, positivaram 66,67% (6/9) das biópsias de antro no G1 e 45,46% (5/11) no G2 (Tab. 6 e 7; Fig. 5 e 6).

Com relação à segunda endoscopia, positivaram 71,44% (5/7) das biópsias de *margo plicatus* no G1 e 90,00% (9/10) no G2. Na mesma endoscopia, positivaram 42,86% (3/7) das biópsias de antro no G1 e 50,00% (5/10) no G2.

Já à terceira endoscopia, positivaram 66,67% (5/7) das biópsias de *margo plicatus* no G1 e 54,54% (6/11) no G2. Na mesma endoscopia, positivaram 77,78% (7/9) das biópsias de antro no G1 e 100% no G2. Não se observou diferença ( $P>0,05$ ) entre grupos por endoscopia, porém houve resultado significativo ( $P<0,05$ ) no G2 de *margo plicatus*, diferindo entre a primeira e segunda endoscopia e no G2 de antro, diferindo entre a segunda e terceira endoscopias ( $P<0,05$ ).

A constatação da presença de urease já foi utilizada em equinos. Green et al. (1990) citados por MacAllister (1999) obtiveram um caso positivo em 21 equinos, enquanto Hepburn (2004) obteve sete positivos em 15.

Tabela 6: Tempo de viragem para urease, para fragmentos do antro e do corpo, de acordo com o grupo e a endoscopia, em potros submetidos ao estresse do desmame.

Viragem	Grupo 1 (5 – n)			Grupo 2 (5 – n)		
	Exame 1	Exame 2	Exame 3	Exame 1	Exame 2	Exame 3
<b>Margo plicatus</b>						
Negativo	44,44 (4/9)	28,57 (2/7)	33,33 (3/9)	63,64 (7/11)	10,00 (1/10)	45,45 (5/11)
Positivo em:						
12 horas	-	-	-	-	10,00 (1/10)	-
36 horas	-	14,29 (1/7)	-	9,09 (1/11)	10,00 (1/10)	-
48 horas	11,11 (1/9)	14,29 (1/7)	22,22 (2/9)	-	10,00 (1/10)	-
72 horas	11,11 (1/9)	14,29 (1/7)	33,33 (3/9)	18,18 (2/11)	20,00 (2/10)	27,27 (3/11)
96 horas	33,33 (3/9)	28,57 (2/7)	11,11 (1/9)	9,09 (1/11)	40,00 (4/10)	27,27 (3/11)
Total positivos	55,56 (5/9)	71,43 (5/7)	66,67 (6/9)	36,36 (4/11)	90,00 (9/10)	54,55 (6/11)

<b>Antro</b>						
Negativo	33,33 (3/9)	57,14 (4/7)	22,22 (2/9)	54,55 (6/11)	50,00 (5/10)	-
Positivo em:						
12 horas	-	-	-	-	-	-
36 horas	-	-	-	-	20,00 (2/10)	9,09 (1/11)
48 horas	11,11 (1/9)	-	-	-	-	18,18 (2/11)
72 horas	-	-	11,11 (1/9)	9,09 (1/11)	20,00 (2/10)	18,18 (2/11)
96 horas	55,56 (5/9)	42,86 (3/7)	66,67 (6/9)	36,36 (4/11)	10,00 (1/10)	54,55 (6/11)
Total positivos	66,67 (6/9)	42,86 (3/7)	77,78 (7/9)	45,46 (5/11)	50,00 (5/10)	100,0 (11/11)

Tabela 7: Tempo de viragem para urease, para fragmentos do antro e do corpo, independente do grupo e da endoscopia, em potros submetidos ao estresse do desmame.

Viragem	<i>Margo plicatus</i>	Antro
Negativo	38,6% (22/57)	35,1% (20/57)
Positivo em:		
12 horas	1,8% (1/57)	- -
36 horas	5,3% (3/57)	5,3% (3/57)
48 horas	8,8% (5/57)	5,3% (3/57)
72 horas	21,1% (12/57)	10,5% (6/57)
96 horas	24,6% (14/57)	43,9% (25/57)
Total positivos	61,4% (35/57)	64,91% (37/57)

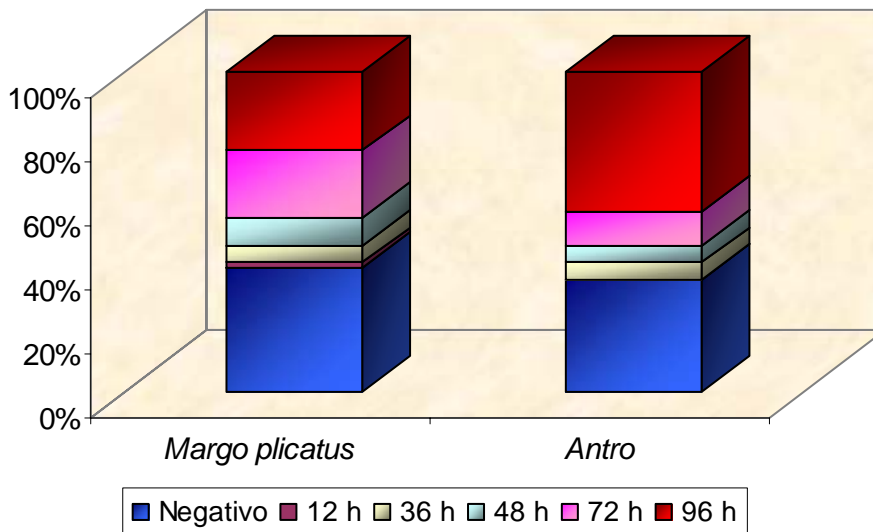


Figura 5: Distribuição dos resultados positivos do teste de urease por região estomacal e tempo, em potros submetidos ao estresse do desmame.

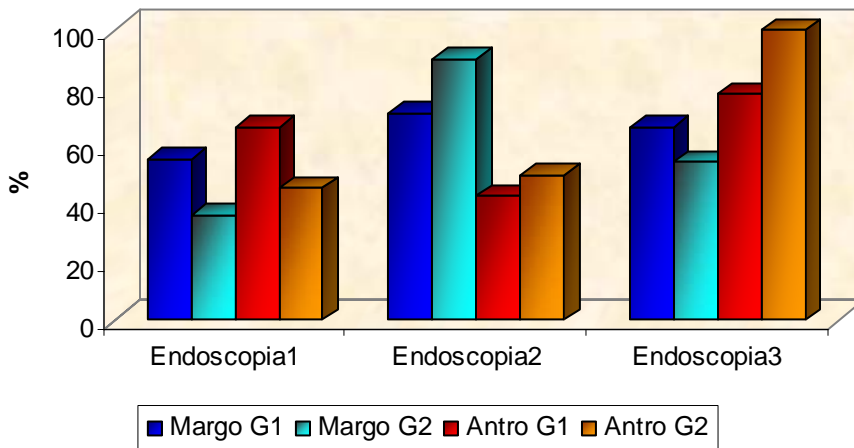


Figura 6: Distribuição dos resultados positivos do teste de urease por endoscopia e região estomacal, em potros submetidos ao estresse do desmame.

Entretanto, existem diferenças entre as duas apresentações comerciais do teste, que impedem maiores comparações. Na apresentação em gel o teste é considerado positivo quando a mudança

de cor aparece nas primeiras 24 horas, com baixo resultado de falso-positivo ou negativo. O teste rápido, utilizado por Hepburn (2004), com resultado ofertado em 1 hora, pode apresentar até 29% de falso-positivo (Yousfi et al., 1997; Chen et al., 1998).

Neste trabalho, apenas um animal apresentou resultado positivo com 12 horas, ficando o restante acima das 24 horas preconizadas, não sendo possível avaliar, nesse momento, o significado dos resultados tardios. Considerando que a leitura referente ao teste de urease pode ser estendida experimentalmente, até às 96 horas, e diversos autores obtiveram a constatação de DNA bacteriano pelo exame de PCR, é lícito especular sobre a presença de uma bactéria *Helicobacter*-like presente no estômago dos eqüinos, neste experimento, também.

*Helicobacter pylori* é uma bactéria produtora de urease extracelular, assegurando sua sobrevivência em meio microaerofílico (Sobhani et al., 1995). É feito uso dessa capacidade, mediante testes colorimétricos, que medem a transformação da uréia (El-Zimaity et al., 1995; Bourke, et al., 1996; Magalhães e Carvalhaes, 2000).

## 4.2 AVALIAÇÃO LABORATORIAL

### 4.1.1 Análise hematológica

Foram coletadas 43 amostras de sangue, no G1, sendo 9, 8, 9, 8 e 9, nos dias 1, 14, 15, 17 e 29, respectivamente. Já no G2 foram coletadas 50 amostras, sendo 11, 8, 11, 9 e 11, nos dias 1, 14, 15, 17 e 29, respectivamente. A partir dessas amostras foram realizadas as análises laboratoriais.

A série vermelha não apresentou diferenças ( $P > 0,05$ ) entre os grupos 1 e 2, tanto em relação aos valores médios para hemácias, hemoglobina e hematócrito, quanto em relação aos índices hematimétricos (Tab.8). Entretanto, a uma análise individual e

numérica evidencia-se em 11% dos potros do G1 e 18% dos potros do G2 anemia severa, com valores de eritrócitos de até  $4,51 \times 10^6/\mu\text{l}$ , com os valores dos índices hematimétricos acompanhando o quadro, principalmente após a segunda endoscopia com o desmame prévio. Possivelmente, esse quadro foi decorrente de infecção por *Babesia*, já que os valores médios de hemoglobina permaneceram dentro dos valores de referência, tanto no G1 quanto no G2.

Apesar de o hemograma ser um exame de interpretação bastante subjetiva, pelo grande número de fatores que interferem em seu resultado, o coeficiente de variação (CV) encontrado nesse estudo foi baixo, sendo de 11,91% para os valores de hemoglobina. Isso traduz uma homogeneidade dos resultados, apesar de alguns animais apresentarem uma redução do número de hemácias e hemoglobina.

Nenhum destes índices laboratoriais estudados pode indicar lesão gástrica, como citado por Wilson e Pearson (1986), Campbell-Thompson e Merritt (1990), Murray (1991a), Perkins e Vasey (1994), Murray (2000) e Radostits et al. (2002).

Não foram observados os efeitos da epinefrina, descritos por Jain (1993), em decorrência da agitação, como observado nos valores médios do hematócrito e das hemácias, tanto para o G1 como para o G2. Ocorreu elevada porcentagem de poiquilocitose (88% no G1 e 85,45% no G2) cuja causa permanece desconhecida.

Tabela 8: Valores médios ( $\pm$  desvio padrão) para hemácias, hemoglobina, volume corpuscular médio, hemoglobina corpuscular média e concentração de hemoglobina corpuscular média, de acordo com o grupo e o dia da colheita, em potros submetidos ao estresse do desmame.

Dia da colheita*	Grupo 1		Grupo 2		Média $\pm$ s	Total	
	n	Média $\pm$ s	n	Média $\pm$ s		Mínimo	Máximo
<b>Hemácias</b>	<b>7,9 a 11,6x10<sup>6</sup>/<math>\mu</math>l *</b>						
1	9	8,94 $\pm$ 0,64	11	9,08 $\pm$ 1,16	9,02 $\pm$ 0,94	7,23	11,70
14	8	9,19 $\pm$ 1,15	8	9,36 $\pm$ 0,55	9,27 $\pm$ 0,87	8,20	11,59
15	9	9,06 $\pm$ 1,26	11	8,66 $\pm$ 1,11	8,84 $\pm$ 1,17	6,52	11,01
17	8	8,76 $\pm$ 1,96	9	8,56 $\pm$ 1,13	8,65 $\pm$ 1,52	4,51	10,72
29	9	8,62 $\pm$ 0,73	11	8,59 $\pm$ 1,09	8,61 $\pm$ 0,92	7,11	10,39
Total	43	8,91 $\pm$ 1,18	50	8,83 $\pm$ 1,06	8,87 $\pm$ 1,11	4,51	11,70
<b>Hemoglobina</b>	<b>10,8 a 15,4 g/dl *</b>						
1	9	11,37 $\pm$ 0,91	11	11,64 $\pm$ 1,18	11,52 $\pm$ 1,05	9,70	13,90
14	8	11,64 $\pm$ 2,12	8	11,66 $\pm$ 0,74	11,65 $\pm$ 1,54	9,20	16,20
15	9	11,83 $\pm$ 1,34	11	11,17 $\pm$ 1,20	11,47 $\pm$ 1,28	9,30	13,70
17	8	11,14 $\pm$ 2,48	9	11,11 $\pm$ 1,18	11,12 $\pm$ 1,84	5,70	13,60
29	9	10,96 $\pm$ 1,04	11	11,04 $\pm$ 1,19	11,03 $\pm$ 1,09	9,30	13,10
Total	43	11,39 $\pm$ 1,61	50	11,31 $\pm$ 1,12	11,35 $\pm$ 1,36	5,70	16,20
<b>Hematócrito</b>	<b>29 a 41% *</b>						
1	9	34,12 $\pm$ 2,65	11	33,68 $\pm$ 3,18	33,88 $\pm$ 2,89	29,20	41,90
14	8	35,13 $\pm$ 5,60	8	34,74 $\pm$ 2,67	34,93 $\pm$ 4,24	30,0	47,70
15	9	35,41 $\pm$ 3,85	11	32,79 $\pm$ 3,19	33,97 $\pm$ 3,66	27,20	40,50
17	8	31,76 $\pm$ 6,95	9	32,57 $\pm$ 4,10	32,19 $\pm$ 5,45	17,00	40,50
29	9	32,53 $\pm$ 3,08	11	32,32 $\pm$ 3,50	32,42 $\pm$ 3,23	28,20	40,00
Total	43	33,81 $\pm$ 4,61	50	33,15 $\pm$ 3,34	33,46 $\pm$ 3,97	17,00	47,70
<b>VCM</b>	<b>32 a 39 fl *</b>						
1	9	38,00 $\pm$ 1,50	11	37,42 $\pm$ 2,25	37,68 $\pm$ 1,92	34,44	40,99
14	8	38,14 $\pm$ 2,01	8	39,36 $\pm$ 5,37	38,75 $\pm$ 3,97	35,02	51,80
15	9	38,16 $\pm$ 2,21	11	38,14 $\pm$ 1,95	38,15 $\pm$ 2,02	34,79	41,03
17	8	36,55 $\pm$ 4,07	9	38,21 $\pm$ 2,32	37,43 $\pm$ 3,26	31,72	42,76
29	9	37,74 $\pm$ 1,72	11	37,79 $\pm$ 1,55	37,77 $\pm$ 1,59	34,96	40,65
Total	43	37,74 $\pm$ 2,39	50	38,11 $\pm$ 2,77	37,94 $\pm$ 2,60	31,72	51,80
<b>HCM</b>							
1	9	12,69 $\pm$ 0,37	11	12,94 $\pm$ 1,088	12,83 $\pm$ 0,83	11,86	15,53
14	8	12,61 $\pm$ 0,99	8	12,48 $\pm$ 0,73	12,55 $\pm$ 0,85	10,89	13,98
15	9	12,74 $\pm$ 0,71	11	12,67 $\pm$ 0,81	12,70 $\pm$ 0,74	10,92	13,88
17	8	12,76 $\pm$ 0,74	9	13,07 $\pm$ 0,99	12,92 $\pm$ 0,87	10,92	14,15
29	9	12,80 $\pm$ 0,53	11	12,89 $\pm$ 0,71	12,85 $\pm$ 0,62	11,69	13,84
Total	43	12,72 $\pm$ 0,66	50	12,82 $\pm$ 0,87	12,77 $\pm$ 0,78	10,89	15,53
<b>CHCM</b>	<b>33 a 40 g/dl *</b>						
1	9	33,45 $\pm$ 0,65	11	34,56 $\pm$ 1,78	34,06 $\pm$ 1,47	32,01	37,88
14	8	33,05 $\pm$ 1,35	8	34,86 $\pm$ 3,39	33,95 $\pm$ 2,66	29,77	42,81
15	9	33,41 $\pm$ 0,70	11	33,93 $\pm$ 0,75	33,70 $\pm$ 0,76	32,41	35,14
17	8	35,09 $\pm$ 2,63	9	34,20 $\pm$ 1,38	34,62 $\pm$ 2,04	31,67	40,00
29	9	33,76 $\pm$ 1,14	11	34,18 $\pm$ 1,51	33,99 $\pm$ 1,34	31,63	36,57
Total	43	33,74 $\pm$ 1,54	50	34,32 $\pm$ 1,81	34,05 $\pm$ 1,71	29,77	42,81

\*Dia 1: 1ª endoscopia; Dia 14: dia do desmame; Dia 15: 2ª endoscopia; Dia 17: 3º dia após o desmame; Dia 29: 3ª endoscopia.

(P>0,05). \*Valores de referência: Harvey (1990).

Os valores médios da contagem de leucócitos, para os animais do G1 foram superiores ( $P < 0,05$ ) nos dias 1, 14 e 15, quando comparados ao dia 29. Apesar da leucocitose apresentada nos dias 1, 14, 15 e 17, os valores retornaram ao normal ao dia 29, sendo semelhante aos do dia 17 ( $P > 0,05$ ). No G2, apesar do ligeiro aumento na contagem total de leucócitos nos dias 14 e 17, não foram detectadas diferenças ( $P > 0,05$ ) entre as colheitas. Entretanto, quando se comparou os grupos em um mesmo dia, observou-se diferença ( $P < 0,05$ ) entre o G1 e G2 nos dias 1 e 15 (Tab. 9 e Fig. 7).

Os neutrófilos segmentados encontravam-se dentro do limite superior da normalidade, diferindo o G1 no dia 1 dos dias 14, 17 e 29 ( $P < 0,05$ ), não sendo detectadas diferenças no G2. Observou-se uma diferença entre grupos ( $P < 0,05$ ) no dia 1.

O estresse produz uma leucocitose fisiológica característica, com neutrofilia, linfopenia, eosinopenia, basofilopenia e monocitose, que foi o quadro observado nos potros, de uma leucocitose com linfopenia e uma monocitose marcante, apesar de não haver uma neutrofilia evidente. Esse quadro não causou surpresa, pois os potros foram submetidos a um estresse intenso, desde o momento em que foram embarcados em caminhão, pela primeira vez na vida, ao jejum, ao desmame e aos procedimentos médicos aversivos.

Em 8,60% (8/93) das ocasiões os potros apresentaram leucocitose, sendo 10% no dia 1, 20% no dia 15 e 10% no dia 17 por apresentarem quadros clínicos compatíveis com a elevação de

leucócitos totais e do número de bastonetes (inflamação de bolsa gutural e seqüela de babesiose). A presença de bastonetes não era esperada em potros, indicando uma resposta a um processo infeccioso preocupante. Apesar de não terem sido detectadas diferenças para a relação bastonete : neutrófilo, os valores se mantiveram acima dos de referência para a espécie nos dias 1, 15 e 17 no G1 e nos dias 1, 14 e 15 no G2 (Tab. 10). Esse fato possivelmente está relacionado ao estresse e à elevação das lesões gástricas.

No G1 os valores médios para bastonetes diferiram entre os dias 1 quando comparados aos dias 14 e 29 ( $P < 0,05$ ). Já no G2 não foram observadas diferenças entre os dias ( $P > 0,05$ ). Quando se comparou os grupos, apenas no dia 1, detectou-se diferenças ( $P < 0,05$ ), sendo maiores os valores do G1.

Foram detectadas diferenças ( $P < 0,05$ ) nos valores médios para eosinófilos, no G2, entre os dias 1 e 17. No dia 17, três dias após o desmame, os valores médios foram seis vezes superiores ao valor máximo de referência para potros. Esta eosinofilia pode ser reflexo do quadro gástrico, onde um maior escore foi observado à segunda endoscopia, já que a eosinofilia se encontra presente na recuperação de afecções agudas, conforme descrito por Ferreira Neto et al. (1977). Mesmo sem serem detectadas diferenças ( $P > 0,05$ ) entre as colheitas no G1, a eosinofilia também foi um achado freqüente. Esta elevação do número de eosinófilos fez com que não fossem detectadas diferenças entre os grupos ( $P > 0,05$ ).

A contagem de monócitos se apresentou elevada, dentro do esperado para o quadro de linfocitose fisiológica por estresse, sem diferenças entre dias ou grupos ( $P>0,05$ ).

A relação neutrófilo : linfócito (Tab. 10) se manteve invariavelmente elevada, refletindo uma perturbação significativa das proporções normais de neutrófilos e linfócitos em resposta ao estresse induzido. Observou-se diferença ( $P<0,05$ ) no dia 1 quando comparado aos demais, para os animais do G1, assim como entre os grupos no dia 1.

Em relação à série branca, observou-se uma maior reatividade nos animais do G1, traduzida pela diferença observada entre os dias de colheita, para os valores de leucócitos, bastonetes absoluto e relativo, neutrófilos segmentados absoluto, linfócito absoluto. Possivelmente, esses resultados refletem o surgimento de lesões gástricas, provocadas por um quadro agudo no G1. Em contrapartida, os animais do G2 apenas reagudizaram as lesões já presentes.

Quanto à contagem de plaquetas, foi observada diferença ( $P<0,05$ ) entre grupos nos dias 14, 15 e 29. No G1, a contagem de plaquetas se apresentou bastante elevada, ultrapassando os valores superiores esperados para a idade (Harvey, 1990). Fica o questionamento se esse fato se deveu ao esforço do organismo em sustar um sangramento gástrico constante, como nos casos mais graves, observados à endoscopia.

Fatores como babesiose, aparentemente não interferiram nos resultados da primeira endoscopia, pois 33,33% (3/9) dos animais do G1 e 18,18% (2/11) do G2 apresentaram lâminas positivas ao primeiro exame (Tab. 11 e 12). Desta forma, apesar de um maior percentual observado no G1, nenhum dos animais apresentou lesão macroscópica à primeira endoscopia.

Quando comparados os grupos, observou-se que dos animais com hemoparasitoses (43,06%) no G 1, 75% (9/12) eram *B. cabali*, 8,3% (1/12) *B. equi* e em 16,67% (2/12) ambas. Já no G 2, 100% (9/9) era *B. cabali*. Em relação ao dia do desmame 44,44% dos potros (4/9) do G 2 apresentaram *B. cabali* um dia após o desmame (dia 15) (Fig. 8).

A babesiose é doença endêmica em Minas Gerais, e os potros sofrem uma primoinfecção logo ao nascer, quando não contraem a doença intra-útero (Knowles, 1992; Morris, 2000). Por sorte, a maioria dos potros com babesiose apresentou parasitemia por *B. caballi*, menos patogênica e de mais fácil tratamento (Morris, 2000). O leucograma do tipo estresse, gerado por esta doença, não é distinguível do produzido pelo estresse efetivamente, e ambos se confundem. Contudo, é marcante o efeito do estresse sobre o desencadeamento da parasitemia e sintomas clínicos, quando quadruplicou o número de potros afetados por *Babesia*, no dia 15, refletindo um aumento no G2.

Tabela 9: Valores relativos (%) e absolutos para leucócitos, bastonetes, neutrófilos segmentados, linfócitos atípicos, linfócitos, de acordo com o grupo e o dia da colheita, para potros submetidos ao estresse do desmame.

Dia da colheita	Valores absolutos		Valores relativos (%)	
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 1	Grupo 2
<b>Leucócitos (x10<sup>3</sup>/μl)</b>	<b>7,8-11,6 x10<sup>3</sup>/μl*</b>			
Dia 1	14,78 ± 5,31 <sup>Aa</sup>	11,01 ± 2,16 <sup>b</sup>	100,00	100,00
Dia 14	13,76 ± 1,47 <sup>AC</sup>	12,48 ± 2,34	100,00	100,00
Dia 15	14,39 ± 1,85 <sup>Aca</sup>	11,88 ± 2,27 <sup>b</sup>	100,00	100,00
Dia 17	12,04 ± 2,70 <sup>BC</sup>	12,10 ± 2,78	100,00	100,00
Dia 29	11,01 ± 1,05 <sup>B</sup>	10,74 ± 1,05	100,00	100,00
Total	13,21 ± 3,16	11,57 ± 2,17	100,00	100,00
<b>Bastonetes (/μl)</b>	<b>&lt; 150/μl*</b>			
Dia 1	999,89 ± 834,04 <sup>Aa</sup>	456,46 ± 330,88 <sup>b</sup>	5,89 ± 3,22 <sup>AC</sup>	4,18 ± 2,64
Dia 14	395,38 ± 218,07 <sup>B</sup>	509,50 ± 255,41	2,88 ± 1,46 <sup>B</sup>	4,25 ± 2,38
Dia 15	847,06 ± 320,8 <sup>A</sup>	570,23 ± 237,38	5,78 ± 1,86 <sup>AC</sup>	4,91 ± 2,26
Dia 17	761,63 ± 387,2 <sup>AC</sup>	429,00 ± 168,47	6,38 ± 2,77 <sup>Aa</sup>	3,56 ± 1,13 <sup>b</sup>
Dia 29	416,00 ± 292,93 <sup>BC</sup>	348,92 ± 198,53	3,89 ± 2,76 <sup>BC</sup>	3,18 ± 1,54
Total	688,90 ± 506,58	461,37 ± 248,83	4,98 ± 2,74	4,02 ± 2,09
<b>Segmentados (/μl)</b>	<b>2890-5560/μl*</b>			
Dia 1	8359,44 ± 4246,93 <sup>Aa</sup>	5341,73 ± 1315,98 <sup>b</sup>	54,11 ± 9,16	48,09 ± 4,42
Dia 14	6212,25 ± 1033,48 <sup>B</sup>	5395,13 ± 1255,59	47,38 ± 6,12	47,75 ± 7,07
Dia 15	6820,44 ± 1692,23 <sup>AB</sup>	6248,46 ± 1588,87	47,00 ± 8,92	52,36 ± 6,92
Dia 17	5732,75 ± 1717,73 <sup>B</sup>	6038,56 ± 1653,01	47,13 ± 7,59	49,67 ± 4,58
Dia 29	5548,39 ± 1026,97 <sup>B</sup>	5204,43 ± 662,84	50,11 ± 6,15	48,73 ± 6,47
Total	6616,41 ± 2430,24	5731,37 ± 1345,43	49,23 ± 7,87	49,40 ± 5,98
<b>Linfócitos atípicos (/μl)</b>				
Dia 1	0,00 ± 0,00	5,36 ± 17,79	0,00 ± 0,00	0,09 ± 0,30
Dia 14	55,13 ± 111,40	0,00 ± 0,00	0,38 ± 0,74	0,00 ± 0,00
Dia 15	0,00 ± 0,00	14,91 ± 49,45	0,00 ± 0,00	0,18 ± 0,60
Dia 17	54,00 ± 7689	17,00 ± 51,00	0,63 ± 1,06	0,11 ± 0,33
Dia 29	39,33 ± 118,00	22,55 ± 74,78	0,33 ± 1,00	0,18 ± 0,60
Total	28,54 ± 79,61	12,48 ± 46,84	0,26 ± 0,73	0,12 ± 0,44
<b>Linfócitos (/μl)</b>	<b>3200-6010/μl*</b>			
Dia 1	4487,33 ± 691,00 <sup>B</sup>	4297,27 ± 744,66	33,44 ± 10,85	39,27 ± 3,00
Dia 14	5654,38 ± 1317,93 <sup>A</sup>	4922,75 ± 1171,40	41,00 ± 7,62	39,25 ± 4,06
Dia 15	5498,60 ± 966,82 <sup>Aa</sup>	4114,27 ± 794,27 <sup>b</sup>	38,44 ± 6,48	34,80 ± 4,08
Dia 17	4315,50 ± 1347,07 <sup>B</sup>	4266,89 ± 862,37	35,63 ± 7,58	36,00 ± 6,38
Dia 29	4044,83 ± 417,65 <sup>B</sup>	4227,27 ± 857,68	36,89 ± 3,62	39,09 ± 4,89
Total	4791,53 ± 1151,33	4336,22 ± 883,51	37,02 ± 7,66	37,66 ± 4,79

<sup>AB</sup>Médias seguidas por letras maiúsculas, na mesma coluna, diferem (P<0,05)

<sup>ab</sup>Médias seguidas por letras minúsculas, na mesma linha, diferem (P<0,05)

\*Valores de referência: Harvey (1990); Dia 1: 14 dias antes do desmame; Dia 14: dia do desmame; Dia 15: um dia após o desmame; Dia 17: dois dias após o desmame. Grupo 1: animais sem lesões gástricas macroscópicas à primeira endoscopia; Grupo 2: animais com lesões gástricas macroscópicas à primeira endoscopia.

Tabela 10: Valores relativos (%) e absolutos para basófilos, eosinófilos, monócitos, relação neutrófilo:linfócito e bastonetes:neutrófilos e plaquetas, de acordo com o grupo e o dia da colheita, para potros submetidos ao estresse do desmame.

Dia da colheita	Valores absolutos		Valores relativos	
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 1	Grupo 2
<b>Basófilos (/μl)</b>	<b>0-60/μl*</b>			
Dia 1	14,67 ± 44,00 <sup>B</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>B</sup>	0,11 ± 0,33 <sup>B</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>B</sup>
Dia 14	33,00 ± 93,34 <sup>B</sup>	31,38 ± 58,76 <sup>AB</sup>	0,25 ± 0,71 <sup>B</sup>	0,25 ± 0,46 <sup>AB</sup>
Dia 15	14,67 ± 44,00 <sup>Bb</sup>	41,18 ± 136,59 <sup>ABa</sup>	0,11 ± 0,33 <sup>B</sup>	0,27 ± 0,91 <sup>AB</sup>
Dia 17	181,50 ± 149,81 <sup>A</sup>	103,44 ± 165,34 <sup>A</sup>	1,50 ± 1,07 <sup>Aa</sup>	0,78 ± 0,97 <sup>Ab</sup>
Dia 29	44,00 ± 87,36 <sup>B</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>B</sup>	0,44 ± 0,88 <sup>B</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>B</sup>
Total	55,26 ± 106,05	32,70 ± 100,89	0,47 ± 0,86	0,24 ± 0,66
<b>Eosinófilos (/μl)</b>	<b>0-55/μl*</b>			
Dia 1	91,56 ± 156,64	96,64 ± 192,84 <sup>B</sup>	0,67 ± 1,12 <sup>B</sup>	0,82 ± 1,60 <sup>B</sup>
Dia 14	254,38 ± 243,34	289,69 ± 258,26 <sup>AB</sup>	1,88 ± 1,81 <sup>AB</sup>	2,25 ± 1,75 <sup>AB</sup>
Dia 15	251,61 ± 339,11	103,67 ± 156,45 <sup>B</sup>	1,78 ± 2,39 <sup>AB</sup>	0,92 ± 1,31 <sup>B</sup>
Dia 17	312,75 ± 156,56	346,44 ± 286,25 <sup>A</sup>	2,63 ± 1,06 <sup>A</sup>	2,67 ± 1,50 <sup>A</sup>
Dia 29	195,78 ± 341,65	217,00 ± 187,62 <sup>AB</sup>	1,67 ± 2,87 <sup>AB</sup>	2,00 ± 1,79 <sup>AB</sup>
Total	218,31 ± 261,73	200,52 ± 229,07	1,70 ± 2,01	1,66 ± 1,70
<b>Monócitos (/μl)</b>	<b>4-45/μl*</b>			
Dia 1	825,89 ± 416,12	811,64 ± 167,84	5,78 ± 2,17	7,55 ± 1,64
Dia 14	858,00 ± 142,20	792,81 ± 411,63	6,25 ± 0,89	6,25 ± 2,82
Dia 15	957,62 ± 292,59	785,41 ± 519,06	6,89 ± 3,14	6,56 ± 3,50
Dia 17	679,38 ± 413,31	898,67 ± 433,52	6,13 ± 3,98	7,22 ± 2,11
Dia 29	717,22 ± 311,04	722,56 ± 247,70	6,67 ± 3,32	6,82 ± 2,60
Total	809,43 ± 331,38	798,92 ± 362,44	6,35 ± 2,79	6,90 ± 2,55
<b>Neutrófilo:linfócito</b>	<b>1,00:1,00* (1,00)</b>			
Dia 1	1,93 ± 1,18 <sup>Aa</sup>	1,24 ± 0,19 <sup>b</sup>		
Dia 14	1,21 ± 0,36 <sup>B</sup>	1,24 ± 0,31		
Dia 15	1,29 ± 0,44 <sup>B</sup>	1,53 ± 0,32		
Dia 17	1,42 ± 0,54 <sup>B</sup>	1,45 ± 0,43		
Dia 29	1,38 ± 0,26 <sup>B</sup>	1,28 ± 0,28		
Total	1,45 ± 0,67 <sup>B</sup>	1,35 ± 0,32		
<b>Bastonete:neutrófilo</b>	<b>0,02 ± 0,07**</b>			
Dia 1	0,11 ± 0,05	0,10 ± 0,06		
Dia 14	0,06 ± 0,03	0,09 ± 0,07		
Dia 15	0,13 ± 0,04	0,10 ± 0,06		
Dia 17	0,14 ± 0,06	0,07 ± 0,02		
Dia 29	0,08 ± 0,07	0,07 ± 0,05		
Total	0,10 ± 0,06	0,09 ± 0,05		
<b>Plaquetas</b>	<b>128 a 368 x10<sup>3</sup>/μl*</b>			
1	420,67±149,34	350,42±126,64		
14	524,25±172,43 <sup>a</sup>	324,44±130,47 <sup>b</sup>		
15	465,11±136,80 <sup>a</sup>	313,15±139,57 <sup>b</sup>		
17	430,13±99,60	324,51±149,91		
29	478,81±146,59 <sup>a</sup>	306,2±144,62 <sup>b</sup>		
Total	463,17±140,97	323,67±133,69		

<sup>AB</sup>Médias seguidas por letras maiúsculas, na mesma coluna, diferem (P<0,05)

<sup>ab</sup>Médias seguidas por letras minúsculas, na mesma linha, diferem (P<0,05)

\*Valores de referência: Harvey (1990); \*\*Valores de referência: Brewer, (1990). Dia 1: 14 dias antes do desmame; Dia 14: dia do desmame; Dia 15: um dia após o desmame; Dia 17: dois dias após o desmame. Grupo 1: animais sem lesões gástricas macroscópicas à primeira endoscopia; Grupo 2: animais com lesões gástricas macroscópicas à primeira endoscopia.

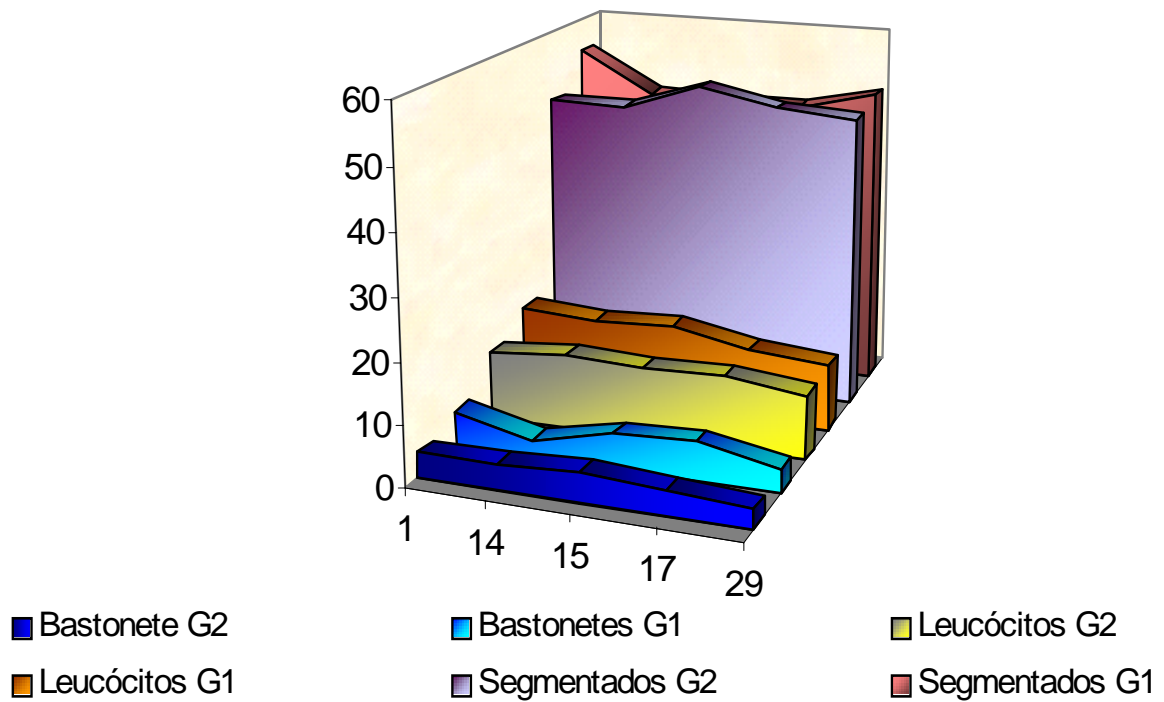


Figura 7: Valores de leucócitos totais ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ ) e valores absolutos de segmentados neutrófilos e bastonetes, de acordo com o dia da colheita, em potros submetidos ao estresse do desmame.

\*Dia 1: 1ª endoscopia; Dia 14: dia do desmame; Dia 15: 2ª endoscopia; Dia 17: 3º dia após o desmame; Dia 29: 3ª endoscopia.

Tabela 11: Presença de hemoparasitas, por grupo, de acordo com o o dia da colheita do sangue, em potros submetidos ao estresse do desmame.

	G1	G2	Total
Normal	31/43	41/50	72/93
B. cabali	9/12	9/9	18/93
B. equi	1/12	0/9	1/93
Mista	2/12	0/9	2/93

**G1:** animais sem lesão macroscópica à primeira endoscopia

**G2:** animais com lesão macroscópica à primeira endoscopia

Tabela 12: Presença de hemoparasitas em potros, por grupo, de acordo com o dia da colheita do sangue, em potros submetidos ao estresse do desmame.

Grupo*		Dias da colheita					Total
		1	14	15	17	29	
G1	Sem Paras.	6	6	7	6	6	31
	Com Paras.	3	2	2	2	3	12
G2	Sem Paras.	10	7	7	8	9	41
	Com Paras.	1	1	4	1	2	9
Total		20	16	20	17	20	93

\*Dia 1: 1ª endoscopia; Dia 14: dia do desmame; Dia 15: 2ª endoscopia; Dia 17: 3º dia após o desmame; Dia 29: 3ª endoscopia.

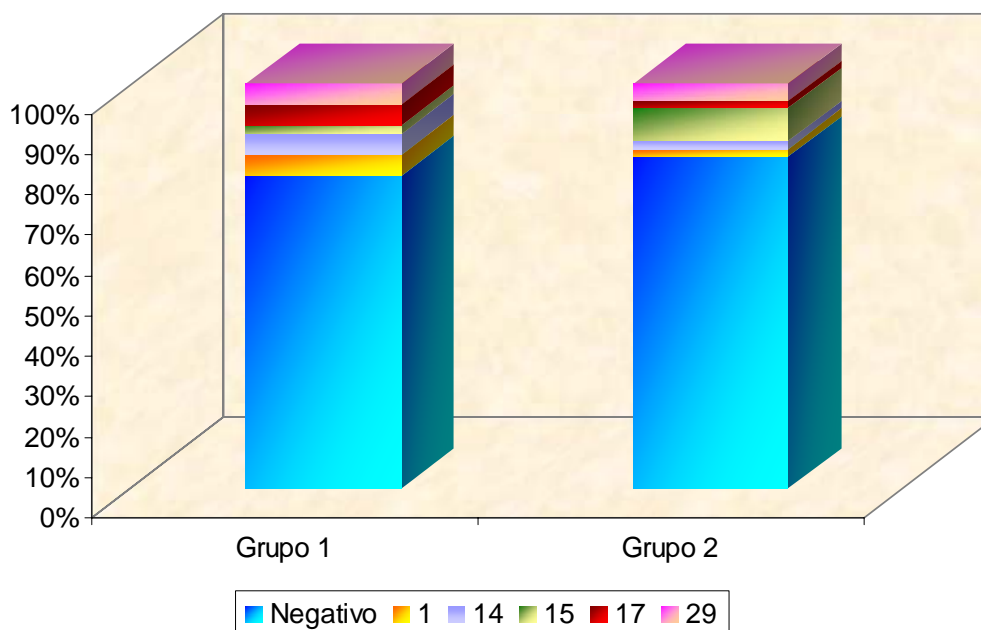


Figura 8: Presença de hemoparasitas, de acordo com o grupo e o dia da colheita, em potros submetidos ao estresse do desmame.

\*Dia 1: 1ª endoscopia; Dia 14: dia do desmame; Dia 15: 2ª endoscopia; Dia 17: 3º dia após o desmame; Dia 29: 3ª endoscopia.

#### 4.2.2 Avaliação sérica de gastrina

As dosagens de gastrina do G1 nos dias 14, 15, 17 foram semelhantes ( $P>0,05$ ), porém superiores ao dia 1 ( $P<0,05$ ); e as do dia 17 superiores às do dia 29 ( $P<0,05$ ). O G2 não apresentou diferença ( $P>0,05$ ) entre os dias, entretanto entre os dias 14 e 15 e 14 e 29 observou-se um valor de  $P= 0,0585$  e  $0,0550$ , respectivamente (Tab. 13 e Fig. 9). Estes valores do G2 provavelmente se devem ao desvio padrão observado. Não houve diferença entre grupos em qualquer dia de colheita ( $P>0,05$ ), ainda assim, a organização dos resultados em escala logarítmica, permitiu visualizar uma discreta elevação numérica dos valores individuais no G2 (Fig. 10).

A gastrina é um dos três mediadores da síntese de ácido clorídrico pela célula

parietal, assim como é responsável pelas secreções pancreáticas; dessa forma tem uma ação reguladora indireta sobre o pH intestinal (Jubb et al, 1995; Kitchen et al., 1998; Murray, 1991b; Merrit, 1999; Murray, 1999; Kitchen et al, 2000). Como potros secretam gastrina prematuramente, sugeriu-se que esse fosse um fator que contribuiu para a incidência de lesões gástricas na mucosa escamosa (Murray e Luba, 1993), por falta do efeito neutralizante do alimento sólido (Baker, 1992). Como próximo ao desmame os potros já se alimentavam com ração e feno, esse efeito pode ser desconsiderado, no presente trabalho.

Tabela 13: Valores médios ( $\pm$  desvio padrão) para gastrina sérica (pg/ml), de acordo com o grupo e a data do exame, em potros submetidos ao estresse do desmame.

Dia da colheita*	Grupo 1		Grupo 2		Total		
	n	Média $\pm$ s	n	Média $\pm$ s	Média $\pm$ s	Mínimo	Máximo
<b>Gastrina</b>	15,6 $\pm$ 7,5 pg/ml, em jejum, aos três meses de idade*.						
1	9	44,22 $\pm$ 8,30 <sup>C</sup>	11	47,00 $\pm$ 6,77	45,75 $\pm$ 7,43	38,00	65,00
14	8	51,13 $\pm$ 11,01 <sup>AB</sup>	8	51,25 $\pm$ 7,92	51,19 $\pm$ 9,27	39,00	69,00
15	9	46,78 $\pm$ 7,24 <sup>AC</sup>	11	45,00 $\pm$ 3,00	45,80 $\pm$ 5,26	37,00	62,00
17	8	52,38 $\pm$ 6,41 <sup>A</sup>	9	50,22 $\pm$ 6,28	51,24 $\pm$ 6,24	43,00	63,00
29	9	44,67 $\pm$ 7,35 <sup>BC</sup>	11	44,9 $\pm$ 4,89	44,80 $\pm$ 5,94	33,00	55,00
Total	43	47,67 $\pm$ 8,46	50	47,36 $\pm$ 6,17	47,49 $\pm$ 7,28	33,00	69,00

\***Dia 1:** 1ª endoscopia; **Dia 14:** dia do desmame; **Dia 15:** 2ª endoscopia; **Dia 17:** 3º dia após o desmame; **Dia 29:** 3ª endoscopia. Valor de referência: \*Smith et al. (1989). As médias seguidas por letras maiúsculas, em uma mesma coluna, diferem ( $P<0,05$ ).

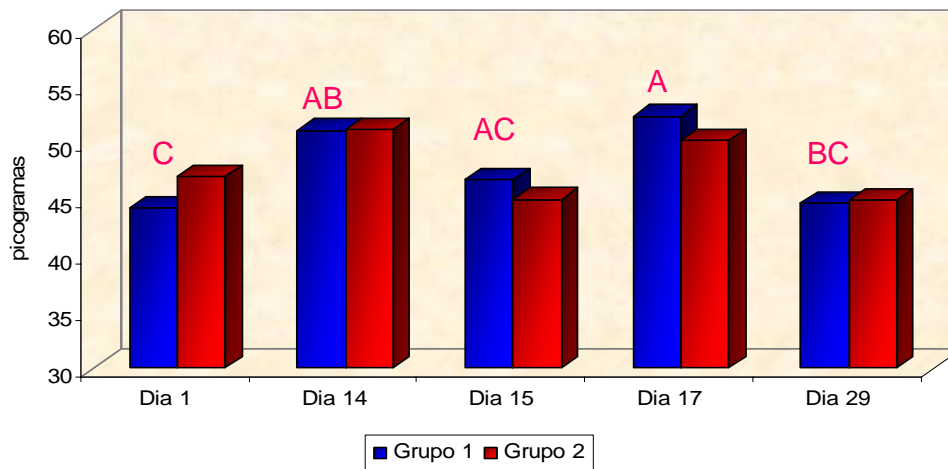


Figura 9: Valores médios para gastrina sérica por grupo, em potros submetidos ao estresse do desmame.

\*Dia 1: 1ª endoscopia; Dia 14: dia do desmame; Dia 15: 2ª endoscopia; Dia 17: 3º dia após o desmame; Dia 29: 3ª endoscopia.

**Grupo 1:** animais sem lesão macroscópica à primeira endoscopia

**Grupo 2:** animais com lesão macroscópica à primeira endoscopia

As médias seguidas por letras maiúsculas, em uma mesma coluna, diferem ( $P < 0,05$ ).

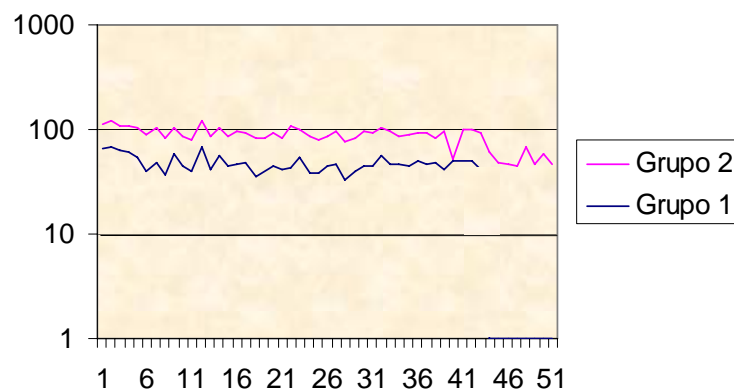


Figura 10: Valores individuais, para gastrina sérica por grupo, em escala logarítmica, em potros submetidos ao estresse do desmame.

**Grupo 1:** animais sem lesão macroscópica à primeira endoscopia

**Grupo 2:** animais com lesão macroscópica à primeira endoscopia

O jejum, intercalado com alimentação esporádica, é fator indutor de úlceras em equinos (Murray e Eichorn, 1996;

Murray e Grady, 2002). Também a dieta e o comportamento alimentar afetam a prevalência de úlceras (Orsini, 2000),

elevando a gastrina (Smyth et al., 1988), o que levou Sandin et al. (1998) a informarem não ser a gastrina apropriada para a medição do estresse, pois sua elevação ocorre independentemente do tipo de alimento ingerido.

Os valores médios encontrados para gastrina, independente do grupo ou dia, foram cerca de três vezes superiores aos citados pela literatura (Smith et al., 1989), para potros em jejum aos três meses de idade. Certamente os valores do presente estudo refletem a condição de estresse ao qual os potros foram submetidos, já que nenhum procedimento foi realizado antes da colheita do sangue. Além disso, as médias mais elevadas foram obtidas no dia do desmame (dia 14) e dois dias após o desmame (dia 17), quando os potros sofreram o maior grau do estresse.

Entretanto, as observações efetuadas nos potros ao desmame parecem indicar que a gastrina se eleva frente ao estresse, independentemente da sua causa, seja ele alimentação em horários variados, jejum, exercício físico ou estresse emocional. De fato, os potros fizeram jejum de 24h à véspera das endoscopias, entretanto, o jejum sozinho não foi capaz de produzir erosões na mucosa gástrica. Esses resultados levam a concordar com Mason (1971) citado por Danzer e Mormède (1983), ao afirmar que os aspectos psicológicos do meio ambiente são poderosos ativadores de respostas endócrinas, sendo categórico ao informar que nenhum tratamento, seja ele frio, calor, jejum ou exercício ativa o eixo pituitário-adrenal, caso o

estímulo emocional seja cuidadosamente evitado.

### **4.3 Avaliação histológica**

#### **4.3.1 Hematoxilina-eosina**

Foram colhidas biópsia tanto de tecido aparentemente saudável como também com lesão aparente, inclusive enantema e edema (Ohana e Almeida, 2000).

As biópsias colhidas do fundo gástrico (epitélio estratificado pavimentoso), apresentaram paraceratose discreta em 74,55% dos casos.

Praticamente todas as biópsias apresentaram algum grau de hemorragia subepitelial, interpretada como artefato inerente à técnica de coleta de biópsia.

A atrofia foi observada em um grande número de biópsias. Assim, na região do corpo de G1, à primeira endoscopia, observou-se algum grau de atrofia em 71, 43% dos casos (grau 1: 28,57%; grau 2: 14,28% e grau 3: 28,57%). À segunda endoscopia, 100% das biópsia apresentaram algum grau de atrofia (grau 1: 42,85%; grau 2: 42,85% e grau 3: 14,28%). À terceira endoscopia, este percentual reduziu discretamente, sendo observado em 88,89% dos casos (grau 1: 44,44%; grau 2: 44,44%).

Na região do corpo de G2, à primeira endoscopia, observou-se este aspecto em 100% das biópsias (grau 1: 45,45%; grau 2: 54,54%). À segunda endoscopia esses dados regrediram discretamente, sendo observada em 88,89% (grau 1: 70,00%; grau 2: 20,00%). À terceira endoscopia, observado em 100% das biópsias, ocorreu uma agravação, com surgimento de escore mais severo (grau

1: 44,44%; grau 2: 44,44% e grau 3: 11,11%).

Na região do antro do G1, a atrofia observou-se à primeira endoscopia em 88,89% dos casos (grau 1: 44,44%; grau 2: 22,22% e grau 3: 22,22%). À segunda endoscopia o quadro agravou, sendo observado em 100% das biópsias (grau 1: 42,85%; grau 2: 14,28% e grau 3: 42,85%). À última endoscopia, a atrofia ocorreu em todas as biópsias, de forma mais intensa (grau 1: 22,22%; grau 2: 22,22% e grau 3: 55,55%).

No G2 as biópsias de antro da primeira endoscopia acusaram atrofia em 90,91% dos casos (grau 1: 27,27%; grau 2: 36,36% e grau 3: 27,27%). À segunda endoscopia ocorreu uma agravação, em 100% dos casos (grau 1: 44,44%; grau 2: 44,44% e grau 3: 11,11%). Na última endoscopia, positivaram novamente 90,91% dos casos (grau 1: 45,45%; grau 2: 9,09% e grau 3: 36,36%). 90,91% dos casos (grau 1: 27,27%; grau 2: 36,36% e grau 3: 27,27%).

As biópsias da região de *margo plicatus* de G1 acusaram atrofia em 62,50% das biópsias, à primeira endoscopia (grau 1: 12,50%; grau 2: 25,00% e grau 3: 25,00%). À segunda endoscopia, observou-se o fato em 85,72% das biópsias (grau 1: 28,57%; grau 2: 42,85% e grau 3: 14,28%). Já à terceira endoscopia, ocorreu uma redução dos escores, positivos em 88,89% dos casos (grau 1: 22,22% e grau 2: 66,66%).

No G2 as biópsias da região de *margo plicatus* colhidas à primeira endoscopia, apresentaram atrofia em 77,78% (grau 1: 66,66% e grau 2: 11,11%). À segunda endoscopia, o fato verificou-se em 100% dos casos, de forma mais amena (grau 1: 44,44% e grau 2:

55,55%). Na última endoscopia, a atrofia foi observada em 90% das biópsias (grau 1: 20,00%; grau 2: 40,00% e grau 3: 30,00%).

É possível que a atrofia, nos escores em questão, tenha sido superestimada, ou que a arquitetura da mucosa tenha sido perturbada por outros processos, não detectados. Entretanto, algum grau de atrofia realmente é esperado nos casos em processo de cronificação (Fig.11).

No G1 algumas das biópsias evidenciaram discreto a moderado infiltrado inflamatório constituído predominantemente de mononucleares linfócitos nas camadas mais profundas ou adjacente à camada muscular. As lesões se caracterizaram por erosões focais e discreto infiltrado inflamatório constituído predominantemente de mononucleares linfócitos, caracterizando gastrite focal.

Desta forma, à primeira endoscopia, nenhuma biópsia da região do corpo apresentou processo inflamatório, surgindo este em 28,57% (grau 1) dos casos à segunda endoscopia e em 34,00% dos casos à terceira endoscopia (grau 1: 22,00% e grau 2: 12,22%).

Na região do antro, a inflamação foi observada em 55,56% dos casos à primeira endoscopia (grau 1: 22,22%; grau 2: 22,22% e grau 3: 11,11%). À segunda endoscopia, verificou-se inflamação em 42,86% dos casos (grau 1: 28,57% e grau 3: 14,28%). Na última endoscopia, verificou-se inflamação em 44,45% das biópsias (grau 1: 22,22%; grau 2: 11,11% e grau 3: 11,11%).

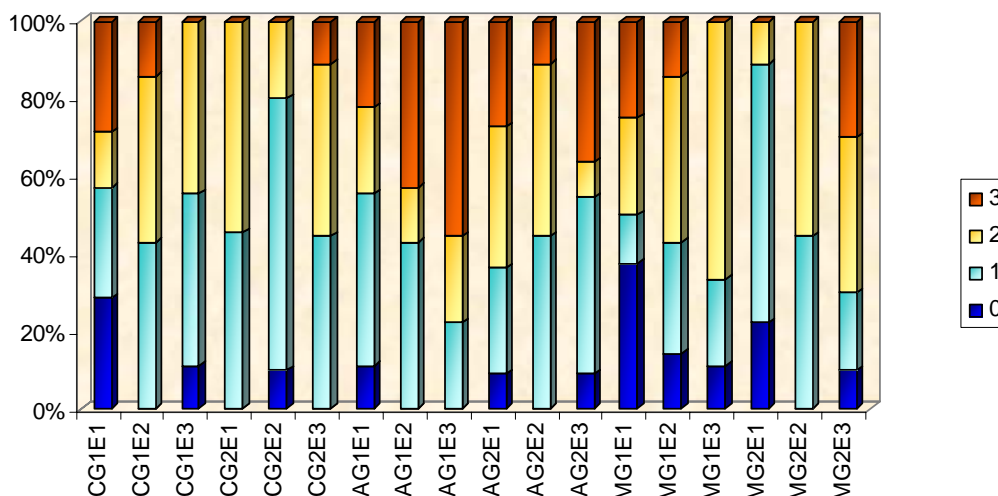


Figura 11: Distribuição do escore do grau de atrofia, de acordo com os achados histológicos, na mucosa gástrica de acordo com a região do estômago, o grupo e a data da endoscopia, em potros submetidos ao estresse do desmame.

C = corpo; A = antro; M = margo plicatus; G1 = grupo 1; G2 = Grupo 2; E1 = endoscopia 1; E2 = endoscopia 2; E3 = endoscopia 3. 0: ausente; 1: leve; 2: moderado; 3: marcante.

As biópsias da região de *margo plicatus* apresentaram inflamação, à primeira endoscopia em 25,00% dos casos (grau 1). À segunda endoscopia, verificou-se processo inflamatório em 42,85% das biópsias (grau 1) e à terceira endoscopia, esta foi observada em 77,78% dos casos (grau 1: 22,22%; grau 2: 22,22% e grau 3: 33,33%).

Já no G2 as lesões histológicas eram intensas, com infiltrado inflamatório constituído predominantemente de mononucleares linfócitos e eventualmente polimorfonucleares neutrófilos nas lesões. Diversos animais apresentam congestão e erosão na região do fundo gástrico e/ou cárdia (epitélio estratificado pavimentoso) com infiltrado inflamatório constituído predominantemente de mononucleares linfócitos. Após o desmame, muitas das biópsias evidenciaram discreto a intenso infiltrado inflamatório constituído

predominantemente de mononucleares linfócitos nas camadas mais profundas ou adjacente à camada muscular.

Desta forma, nas biópsias de corpo, observou-se 36,37% de inflamação (grau 1: 18,18% e grau 2: 18,18%) à primeira endoscopia. À segunda endoscopia, a inflamação foi observada em apenas 27,28% dos casos (grau 1) e à terceira endoscopia observou-se uma agravação, verificando-se processo inflamatório mais severo (grau 1: 33,33%; grau 2: 22,22% e grau 3: 22,22%) (Fig. 12 e 13).

Na região do antro observou-se processo inflamatório em 54,55% dos casos (grau 1: 36,36% e grau 2: 18,18%). Este processo inflamatório agravou-se à segunda endoscopia, sendo de 77,78% (grau 1: 55,55%; grau 2: 11,11% e grau 3: 11,11%). À última endoscopia 80% das biópsias

apresentavam algum grau de inflamação (grau 1: 40,00%; grau 2: 30,00% e grau 3: 10,00%).

O processo inflamatório foi muito evidente nas biópsias de *margo plicatus* do G2. Assim, 66,67% das biópsias apresentaram algum grau de inflamação (grau 1: 22,22%; grau 2: 33,33% e grau 3: 11,11%). À segunda endoscopia demonstraram inflamação 44,45% das biópsias (grau 1: 33,33% e grau 2: 11,11%). A última endoscopia apresentou alto índice de inflamação, de 90,91% (grau 1: 27,27%; grau 2: 45,45% e grau 3: 18,18%).

As lesões de *margo plicatus* cursaram de forma mais intensa, sendo comuns as múltiplas erosões com infiltrado inflamatório constituído de mononucleares linfócitos e polimorfonucleares neutrófilos, principalmente na junção e sobre o foco – gastrite focal. Em outras, ocorreu perda total de integridade, focos de hemorragia e úlcera caracterizando gastrite ulcerativa aguda. Nesses casos, era comum a porção aglandular da *margo plicatus* apresentar moderada paraceratose (Fig. 14).

É interessante constatar que as lesões percebidas à microscopia correspondem muito mais a um quadro crônico do que a um processo agudo, o que levanta a hipótese de que o estresse serviu para agudizar um processo, já talvez em estado quiescente. É preponderante a presença de gastrite linfocítica (Hayat et al., 1999), porém, ao contrário do relatado por Murray et al (2003), esta foi muito mais comum em biópsias de corpo e *margo* do que de antro (Fig. 12 e Fig. 13). Nas lesões de *margo*

*plicatus*, sim, o processo foi agudo, com presença de polimorfonucleares neutrófilos.

Ainda, no caso do G1, o exame histológico precedeu à endoscopia na acurácia do diagnóstico clínico, em particular nas lesões observadas antes do desmame, principalmente edema e enantema das mucosas, demonstrando processo inflamatório já em curso, o que corrobora os achados de MacAllister et al. (1997); Cordeiro et al. (2000) e Andrews et al. (2002).

A presença de polimorfonucleares neutrófilos evidencia processo agudo, o que ocorreu de forma esporádica. Assim, nas biópsia de corpo, a atividade neutrofílica foi observada apenas à segunda e terceira endoscopias do G2 (11,11% e 12,50% em grau 1) (Fig. 15). Não foi observada nenhuma agudização nas biópsias de antro, em ambos os grupos e apenas nas biópsias de *margo plicatus* esta se tornou discretamente mais evidente. Assim, à terceira endoscopia do G1, ocorreu presença de polimorfonucleares neutrófilos em 12,50% dos casos (grau 1). No G2, este processo foi observado em 12,50% dos casos à primeira endoscopia (grau 1), em 50% das biópsias da segunda endoscopia (grau 1: 15,00% grau 2: 15,00% e grau 3: 20,00%) e em 10% à terceira endoscopia (grau 2). Nas lesões (erosões e úlceras) o processo inflamatório era misto, conforme descrito anteriormente.

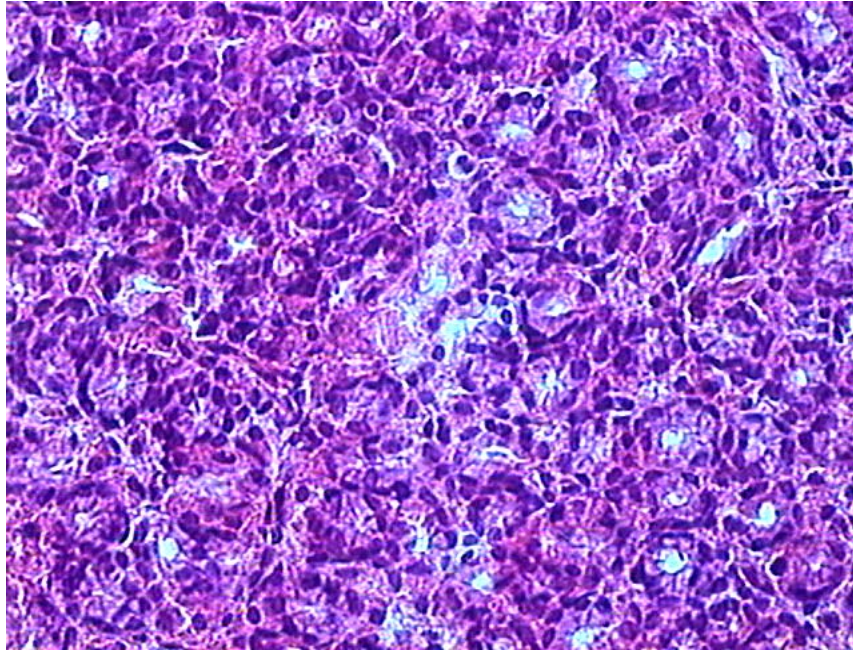


Figura 12. Microfotografia da região do corpo com moderado infiltrado inflamatório constituído de mononucleares linfócitos, à terceira endoscopia, HE, 400x.

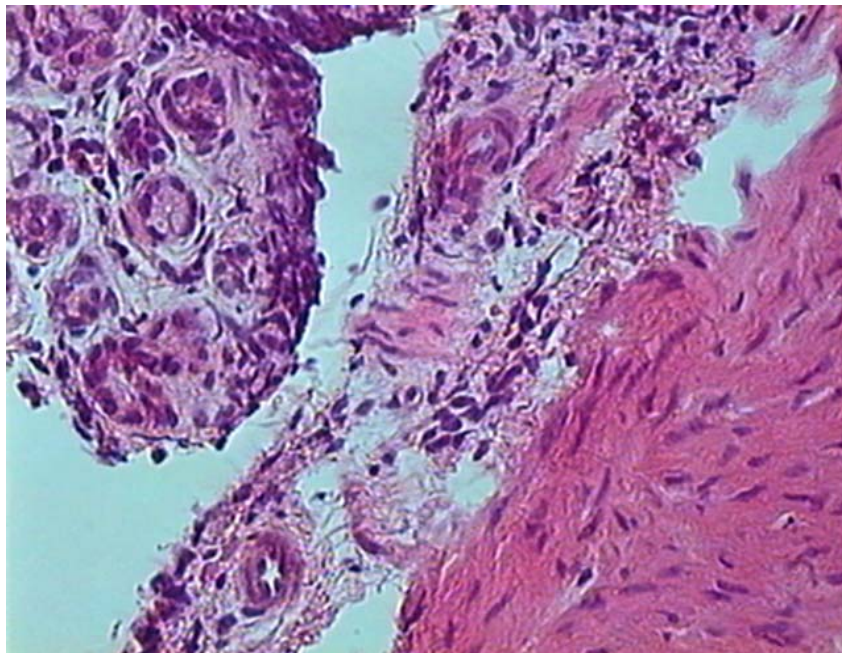


Figura 13. Microfotografia da região de transição da *margo plicatus* com moderado infiltrado inflamatório constituído de mononucleares linfócitos, à terceira endoscopia, HE, 400x.



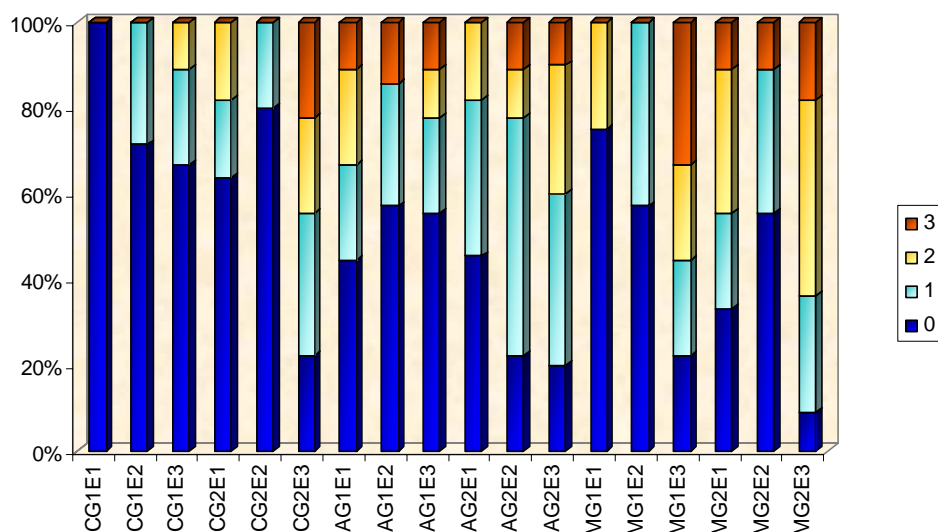


Figura 14: Distribuição do escore do grau de inflamação, de acordo com os achados histológicos, na mucosa gástrica de potros ao desmame, de acordo com a região do estômago, o grupo e a data da endoscopia.

C = corpo; A = antro; M = margo plicatus; G1 = grupo 1; G2 = Grupo 2; E1 = endoscopia 1; E2 = endoscopia 2; E3 = endoscopia 3. 0: ausente; 1: leve; 2: moderado; 3: marcante.

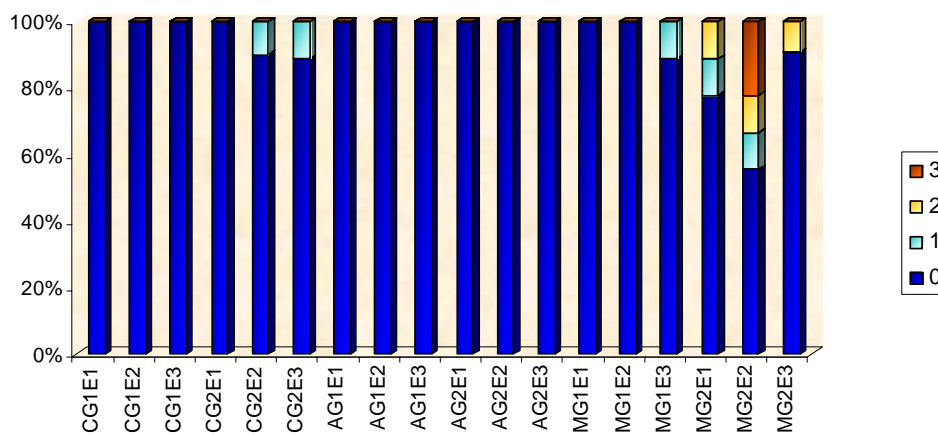


Figura 15: Distribuição do escore do grau de atividade, de acordo com os achados histológicos, na mucosa gástrica de potros ao desmame, de acordo com a região do estômago, o grupo e a data da endoscopia.

C = corpo; A = antro; M = margo plicatus; G1 = grupo 1; G2 = Grupo 2; E1 = endoscopia 1; E2 = endoscopia 2; E3 = endoscopia 3. 0: ausente; 1: leve; 2: moderado; 3: marcante.

A presença de polimorfonucleares neutrófilos evidencia processo agudo, o que ocorreu de forma esporádica. Assim, nas biópsias de corpo, a atividade neutrofilica foi observada apenas à segunda e terceira endoscopias do G2 (11,11% e 12,50% em grau 1) (Fig. 15). Não foi observada nenhuma agudização nas biópsias de antro, em ambos os grupos e apenas nas biópsias de *margo plicatus* esta se tornou discretamente mais evidente. Assim, à terceira endoscopia do G1, ocorreu presença de polimorfonucleares neutrófilos em 12,50% dos casos (grau 1). No G2, este processo foi observado em 12,50% dos casos à primeira endoscopia (grau 1), em 50% das biópsias da segunda endoscopia (grau 1: 15,00% grau 2: 15,00% e grau 3: 20,00%) e em 10% à terceira endoscopia (grau 2). Nas lesões (erosões e úlceras) o processo inflamatório era misto, conforme descrito anteriormente.

#### **4.3.2 Colorações para bactérias espiraladas**

Nenhuma das colorações recomendadas para a identificação de espiroquetas (Rocha et al., 1989; Cordeiro et al., 2000) evidenciou microorganismos gástricos. Na hipótese de sua existência, é provável que outros métodos precisem ser pesquisados.

Como a coloração de Warthin – Starry é muito instável, esvanecendo-se em um período próximo a 15 dias, um fixador foi adicionado à técnica de coloração, com resultados promissores (ver em anexos), permanecendo estável por mais de 90 dias.

#### **4.3.3 Demonstração da presença de mucinas**

##### **4.3.3.1 PAS e Alcian Blue**

Foi observada uma ação extremamente intensa do reativo de Schiff, que cora indistintamente tanto o glicogênio quanto as glicoproteínas neutras e ácidas, ricas em ácido siálico. A abundância de muco não permitiu uma classificação criteriosa, sendo essa pontuada de uma a quatro cruzes, conforme sua espessura, sobre o epitélio da mucosa gástrica e nas glândulas (Fig. 16). As poucas lâminas coradas pelo Alcian Blue (pH 2,5) também deram reação positiva, além da esperada (Fig. 17). O Alcian Blue, nesse pH, cora os glicoconjugados ácidos tanto os sulfatados quanto os carboxilados, assim como as glicoproteínas ácidas. Como essas colorações foram realizadas em apenas 30% das lâminas, de forma aleatória, optou-se pela não discussão dos resultados, uma vez que a coloração mista PAS-AB foi extensamente explorada.

##### **4.3.3.2 PAS- AB (pH2,5)**

A coloração conjunta de Alcian Blue (pH 2,5) com o PAS permitiu efetuar a distinção entre as glicoproteínas neutras e as glicoproteínas ácidas de outros glicoconjugados. Nesse caso, o Alcian Blue distingue, em azul ou púrpura, as glicoproteínas ácidas e em carmin, as mucinas neutras, Schiff-positivas.

Essa coloração permitiu observar o fenômeno da metaplasia intestinal, que se agravou à medida que o quadro de gastrite progredia. Nos casos mais intensos, a coloração, de azul celeste passou para um azul intenso e, às vezes,

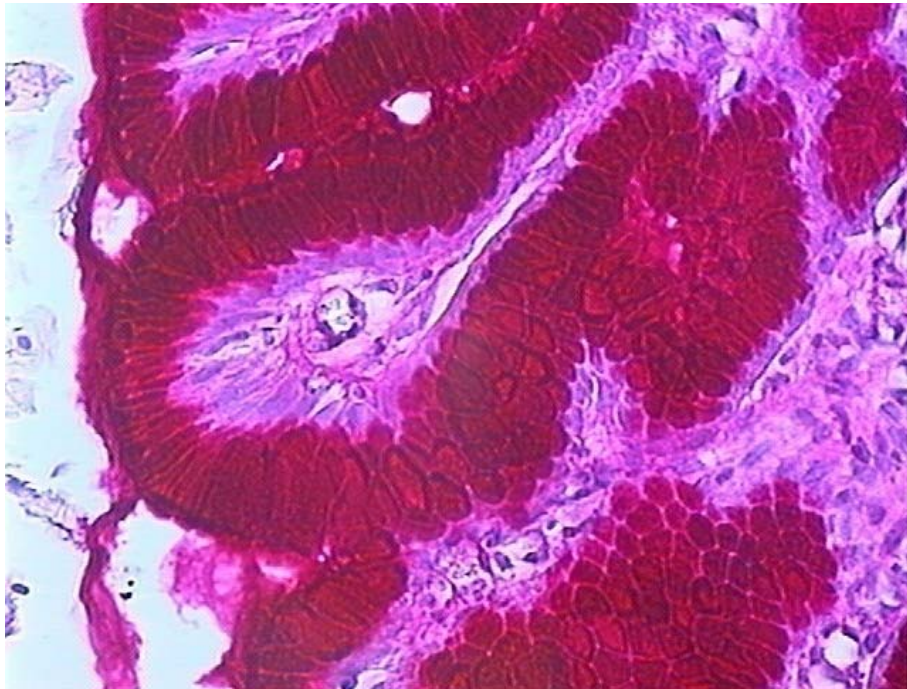


Figura 16: Microfotografia da região da *margo plicatus* à primeira endoscopia, PAS, 40x.

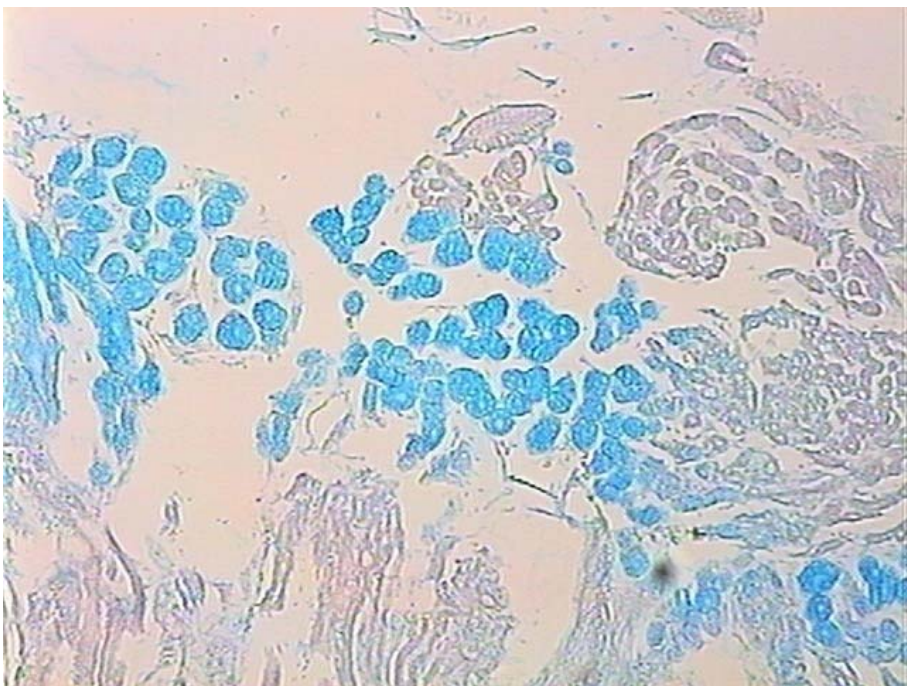


Figura 17: Microfotografia da região da *margo plicatus*, à segunda endoscopia, AB (pH2,5), 10x.



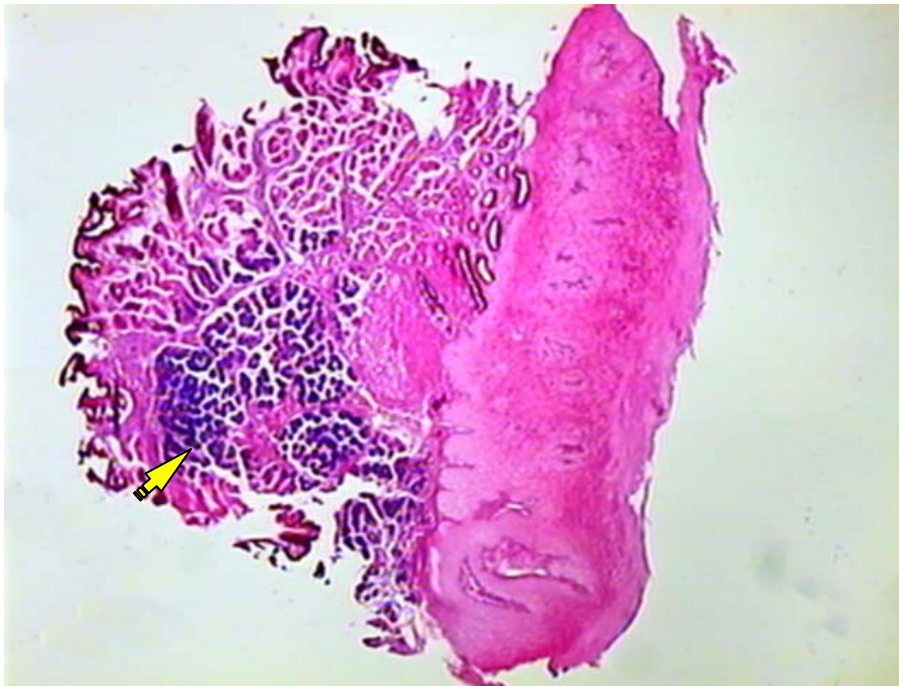


Figura 18: Microfotografia da região da *margo plicatus* com metaplasia intestinal na porção glandular (seta), à terceira endoscopia, PAS-AB (pH2,5), 40x.

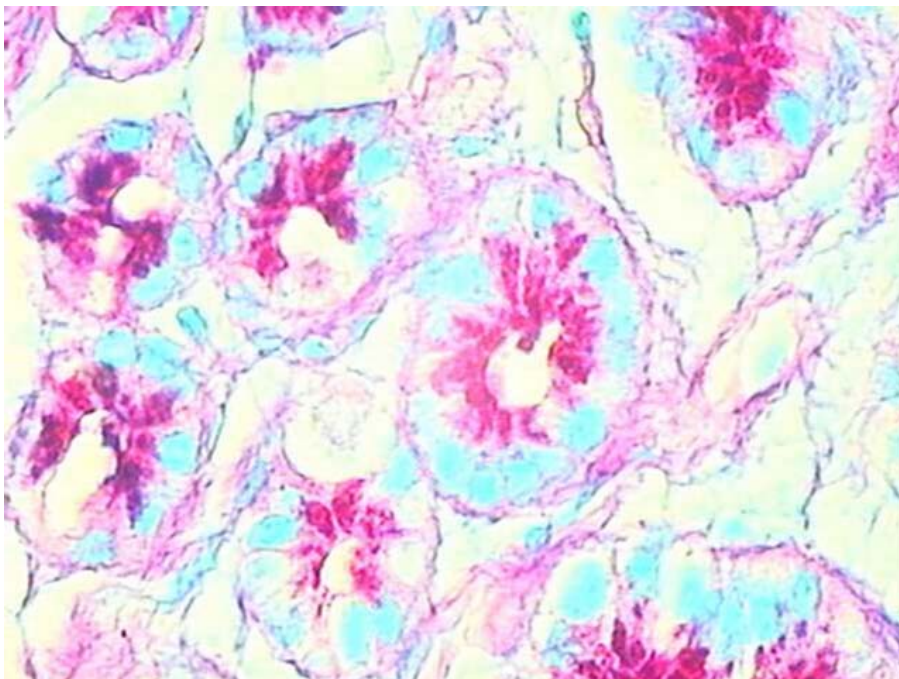


Figura 19: Microfotografia da região do corpo com metaplasia intestinal moderada, à segunda endoscopia, PAS-AB (pH2,5), 400x.



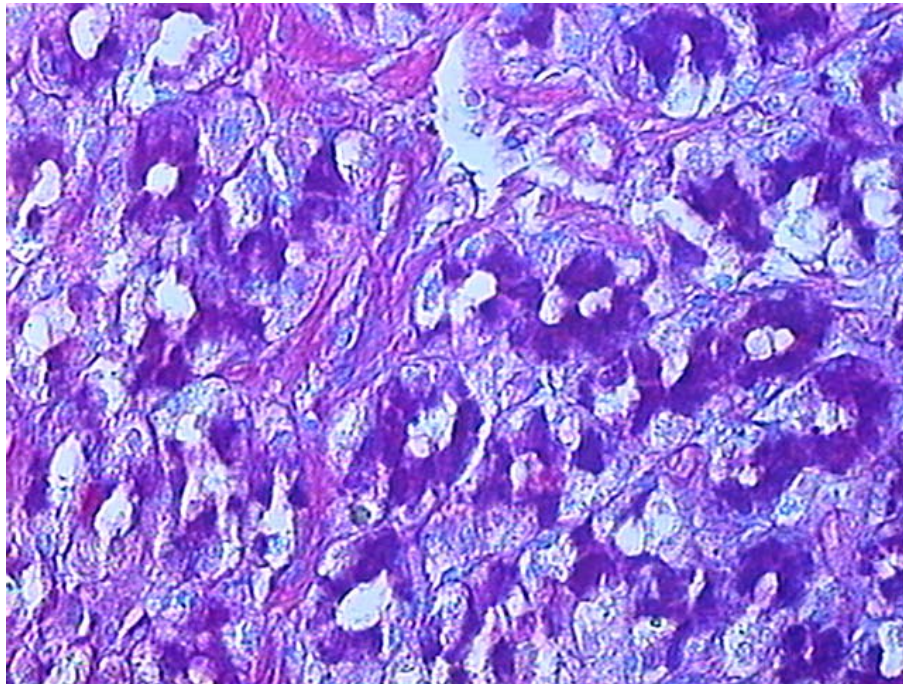


Figura 20: Microfotografia da região do corpo com metaplasia intestinal severa, à segunda endoscopia, PAS-AB (pH2,5), 400x.

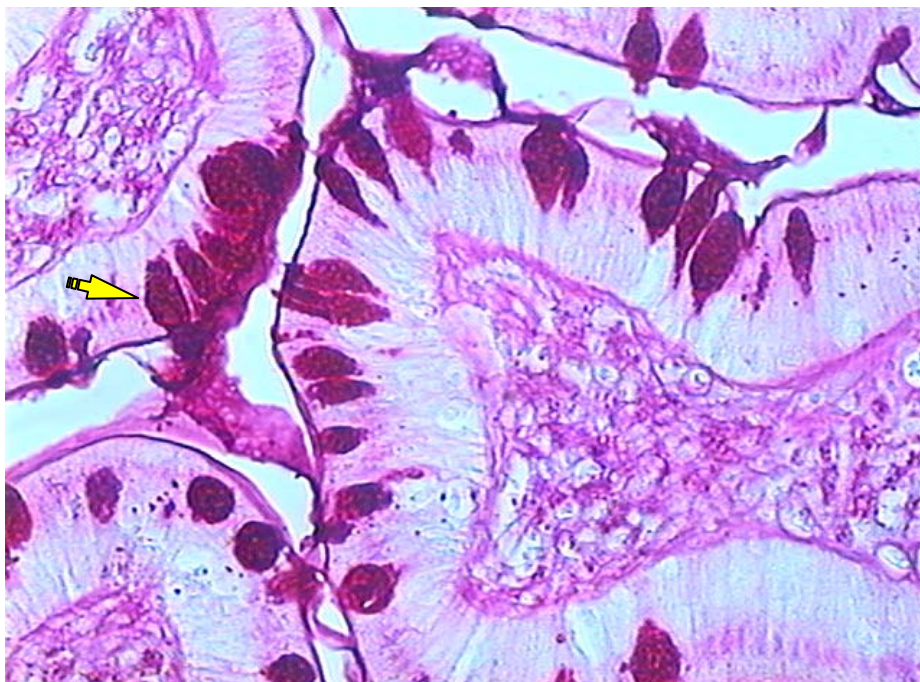


Figura 21: Microfotografia da região do corpo com metaplasia discreta, evidenciando células caliciformes (seta), à primeira endoscopia, PAS-AB (pH2,5), 1000x.



até púrpuro-violáceo, tornando-se muito semelhante às biópsias de duodeno. Diferente da metaplasia que ocorre em humanos, essa coloração se concentrou mais nas glândulas, raramente atingindo o epitélio gástrico.

As áreas coradas pelo AB se concentraram na área mediana das biópsias, basicamente nas glândulas fúndicas. À medida que a lesão metaplásica se tornava mais intensa, a coloração atingia camadas mais superficiais, atingindo, em poucos casos (13,66%, 22/161), as porções mais internas do epitélio de revestimento da mucosa gástrica glandular (Fig. 18, Fig. 19 e Fig. 20). Foi também um achado infrequente (3,7%) a presença de células caliciformes intestinais na mucosa gástrica do corpo, sendo esta uma outra forma de expressar a metaplasia intestinal (Fig. 21).

Esta metaplasia intestinal foi frequente nas biópsias de corpo. No G1, ela ocorreu em 43% dos casos (grau 1: 28,57% e grau 2: 14,28%) à primeira endoscopia. À segunda, foi observada em 50% das lâminas (grau 1: 33,33% e grau 2: 16,16%) e à terceira, em 55,56% (grau 1: 11,11%; grau 2: 33,33% e grau 3: 11,11%). No G2, a metaplasia intestinal foi observada de forma mais intensa. Assim, ela ocorreu em 45,46% das biópsias de corpo, à primeira endoscopia (grau 1: 27,27%; grau 2: 9,09% e grau 3: 9,09%). À segunda endoscopia, foi verificada em 90% dos casos (grau 1: 40,00% e grau 3: 50%). Na última endoscopia, a metaplasia foi observada em 66,67% dos casos (grau 2: 33,33% e grau 3: 33,33%).

Nas biópsias de antro a metaplasia intestinal foi observada de forma mais

frequente. Assim, no G1, ocorreu em 88,89% dos casos, à primeira endoscopia (grau 1: 11,11%; grau 2: 55,55% e grau 3: 22,22%). À segunda endoscopia, as biópsias de antro apresentaram 71,43% de metaplasia (grau 1: 28,57%; grau 2: 28,57% e grau 3: 14,28%). À última endoscopia, esta ocorreu em 44,44% dos casos (grau 1: 22,22%; grau 2: 11,11% e grau 3: 11,11%).

No G2, nas biópsias de antro à primeira endoscopia, a metaplasia intestinal ocorreu em 90,91% dos casos (grau 1: 45,45%; grau 2: 36,36% e grau 3: 9,09%). À segunda, observou-se metaplasia em 55,56% dos casos (grau 1: 33,33% e grau 2: 22,22%). À última endoscopia, verificou-se esta em 63,64% (grau 1: 9,09%; grau 2: 45,45% e grau 3: 22,22%).

As biópsias de *margo plicatus* apresentaram resultado semelhante. Assim, à primeira endoscopia, verificou-se metaplasia intestinal no G1 em 75% dos casos (grau 1: 50,00%; grau 2: 12,50% e grau 3: 12,50%). À última endoscopia, a metaplasia foi encontrada em 85,72% das biópsias (grau 1: 71,42% e grau 2: 14,28%). À terceira endoscopia, verificou-se metaplasia intestinal em 88,89% dos casos (grau 1: 22,22%; grau 2: 55,55% e grau 3: 11,11%).

No G2, à primeira biópsia, a metaplasia intestinal ocorreu em 77,78% dos casos (grau 1: 44,44% e grau 2: 33,33%). Nas biópsias da segunda endoscopia, esta se verificou em 44,45% dos casos (grau 2: 33,33% e grau 3: 11,11%). À última endoscopia, esta taxa aumentou, passando para 81,82% (grau 2: 45,45% e grau 3: 36,36%) (Fig. 22).

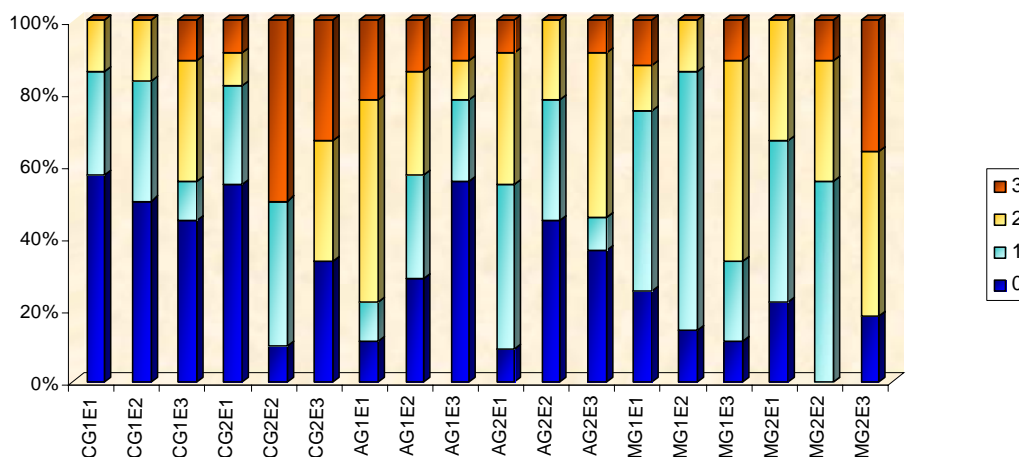


Figura 22: Distribuição do escore do grau de metaplasia, de acordo com os achados histológicos, na mucosa gástrica de potros ao desmame, de acordo com a região do estômago, o grupo e a data da endoscopia  
 C = corpo; A = antro; M = margo plicatus; G1 = grupo 1; G2 = Grupo 2; E1 = endoscopia 1; E2 = endoscopia 2; E3 = endoscopia 3. 0: ausente; 1: leve; 2: moderado; 3: marcante.

Nas biópsias do epitélio estratificado escamoso, sem alterações histológicas, foi observada uma coloração positiva para o PAS no *stratum basale* e mais alcianofílica nas camadas externas do *stratum corneum* (Fig. 23). Em 18,86% dos casos, essa coloração se inverteu, corando fortemente com AB no *stratum basal* e PAS no *stratum corneum* (Fig. 24). Entretanto, à medida que o quadro clínico progrediu, o epitélio estratificado escamoso da região da *margo plicatus* deixou de seguir este padrão e começou a produzir um padrão marmóreo, pela mescla de ambas as colorações e, nas bordas das lesões, ficou fortemente corado pelo AB (Fig. 25 e Fig. 26).

O estômago produz muco para sua proteção (Campbell-Thompson e Merritt, 1988; Geor e Papich, 1990; Lloyd, 1993), que normalmente cora pelo PAS (Tolentino e Faifer, 1994) e

possui uma arquitetura interna delicada (Taylor et al., 2003). Normalmente, esse glicopeptídeo é encontrado em pequena quantidade no estômago equino (Masuda et al, 1977). A classificação das mucinas é baseada na afinidade aos diversos processos histoquímicos (Spicer et al., 1965, 1978; Shah e Shrikhande, 1989) e atualmente foi modificada, sendo as diversas mucinas conhecidas pelos genes que lhe dão origem (Lagow et al., 1999; Bullimore et al., 2001; Silva et al., 2002).

O epitélio estratificado escamoso dos potros neonatos é PAS-positivo (Murray e Mahaffey, 1993) e se assemelha à mucosa esofágica de coelhos. Nestes, Orlando et al. (1992) descobriram uma produção intracelular de muco, tanto neutro quanto ácido, que é secretado para os espaços intercelulares. Essa informação possivelmente se aplica também aos equinos, explicando a presença de muco

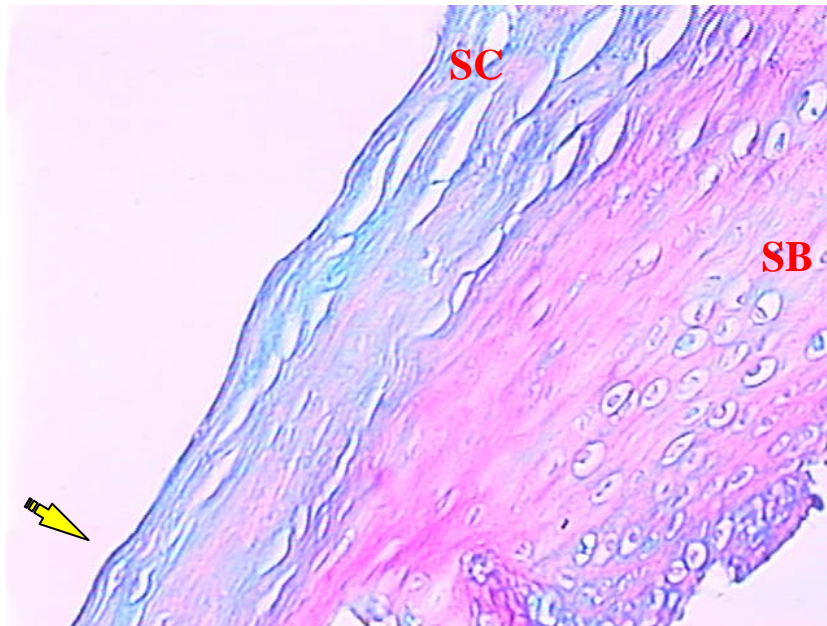


Figura 23: Microfotografia da região fúndica saudável com coloração alcianofílica no *stratum corneum* (SC) (seta) e *stratum basale* periodato positivo (SB) PAS-AB (pH2,5), 400x.



Figura 24: Microfotografia da região fúndica lesada com coloração alcianofílica no *stratum basale* (SB) e *stratum corneum* periodato positivo (SC), PAS-AB (pH2,5), 100x.



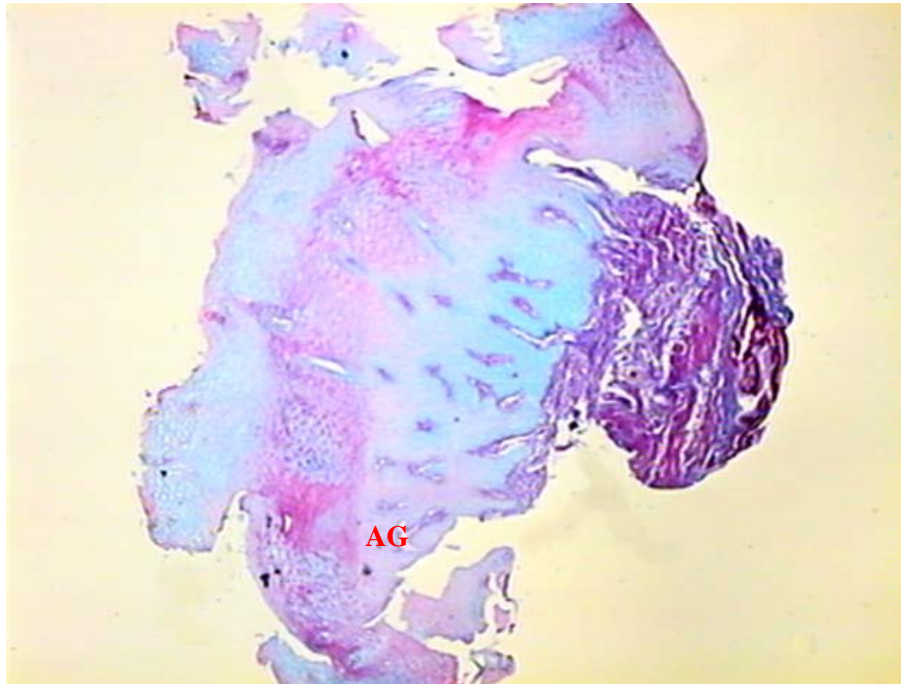


Figura 25: Microfotografia da região da *margo plicatus* com coloração alcianofílica na porção aglandular (AG), à terceira endoscopia, PAS-AB (pH2,5), 40x.

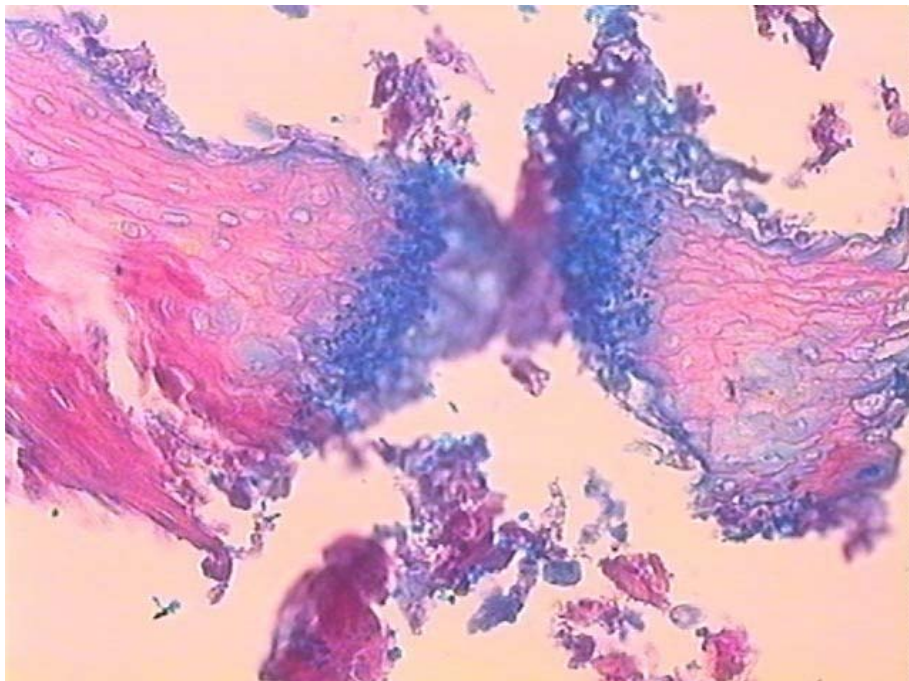


Figura 26: Microfotografia da região da *margo plicatus* com coloração alcianofílica na porção aglandular, à terceira endoscopia, PAS-AB (pH2,5), 400x.



na mucosa gástrica aglandular, no presente trabalho. Ainda, Chen et al. (1999) relatam células com mucina ácida em condições patológicas do esôfago humano.

A bactéria *Helicobacter pylori* coloniza a camada de muco gelificado do estômago (Cole et al., 2003), sendo que a mucina, que aumenta em resposta a sua presença, também lhe serve de alimento (Bravo e Correa, 1999; Jinag e Doyle, 2000; Kaneko et al., 2000; Cole et al., 2003). Em humanos, essa bactéria induz uma expressão aberrante dos genes da mucina gástrica (Byrd et al., 1997) assim como uma enzima (Murty et al., 1993) e em suínos, ulceração gástrica é precedida de alterações na glicolização e volume de muco (Mall et al. 1997). Na hipótese de sua presença também no estômago eqüino, as mudanças de coloração indicando passagem do estado neutro para o ácido seriam bastante esclarecedoras e poderiam ser utilizadas como indicação do grau de lesão.

Em fetos humanos, ocorre uma evolução da célula intestinal indiferenciada, que, com a maturação, se diferencia. Portanto, já no período neonatal, as mucinas ácidas representam apenas uma parcela da secreção (Stauffer et al., 1990; Cohen et al., 2000).

Considerando que os potros, aos cinco meses de idade, ainda não têm o aparato digestivo plenamente desenvolvido, é plausível que os achados de metaplasia intestinal sejam resquícios da expressão fenotípica das mucinas ácidas, talvez agravadas pelo insulto momentâneo do estresse.

Inclusive, Carlton e Gavin (1998) consideram a metaplasia intestinal um fenômeno raramente observado em patologia veterinária.

Buscou-se seguir a classificação de Sydney modificada (Dixon et al., 1996; Meirelles Filho e André, 2000), fazendo uso inclusive, da escala visual analógica, que se mostrou extremamente útil. Cada parâmetro (atividade, inflamação, atrofia, metaplasia intestinal) foi classificado de 0 a 3.

Na Tab. 14 estão apresentadas as médias dos escores para atrofia, inflamação, atividade e metaplasia, de acordo com a endoscopia e o grupo. Na endoscopia 1, no G2, referente à atrofia, observou-se diferença entre as regiões do corpo e antro quando comparadas à da *margo plicatus* ( $P < 0,05$ ). Como a atrofia reflete a cronicidade e, na região da *margo plicatus* ocorreu a maioria das lesões macroscópicas e histológicas de forma aguda, este resultado não foi expresso pelo escore, exceto na endoscopia 3, quando as lesões foram mais incidentes. Este fato foi enfatizado pelo escore do grau de atividade encontrado na endoscopia 2, G2, onde se observou a maior média na *margo plicatus*, quando comparada com o antro e o corpo ( $P < 0,05$ ).

Tabela 14: Escore histológico médio ( $\pm$  desvio padrão) para atrofia, inflamação, grau de atividade e metaplasia, de acordo com a região do estômago, a endoscopia e o grupo, em potros submetidos ao estresse do desmame.

Região estomacal	Endoscopia 1		Endoscopia 2		Endoscopia 3	
	G1	G2	G1	G2	G1	G2
<b>Atrofia</b>						
Corpo	1,43 $\pm$ 1,27	1,55 $\pm$ 0,5 <sup>A</sup>	1,71 $\pm$ 0,76	1,10 $\pm$ 0,57	1,3 $\pm$ 0,71 <sup>B</sup>	1,67 $\pm$ 0,71
Antro	1,56 $\pm$ 1,01	1,8 $\pm$ 0,98 <sup>A</sup>	2,00 $\pm$ 1,00	1,67 $\pm$ 0,71	2,3 $\pm$ 0,87 <sup>A</sup>	1,73 $\pm$ 1,03
Margo	1,38 $\pm$ 1,30	0,89 $\pm$ 0,6 <sup>B</sup>	1,57 $\pm$ 0,98	1,56 $\pm$ 0,53	1,56 $\pm$ 0,7 <sup>B</sup>	1,82 $\pm$ 0,98
<b>Inflamação</b>						
Corpo	0,00 $\pm$ 0,00	0,55 $\pm$ 0,82	0,29 $\pm$ 0,49	0,20 $\pm$ 0,4 <sup>B</sup>	0,56 $\pm$ 0,88	1,44 $\pm$ 1,13
Antro	1,00 $\pm$ 1,12	0,73 $\pm$ 0,79	0,71 $\pm$ 0,11	1,11 $\pm$ 0,9 <sup>A</sup>	0,78 $\pm$ 1,09	1,36 $\pm$ 0,92
Margo	0,50 $\pm$ 0,93	1,22 $\pm$ 1,09	0,43 $\pm$ 0,54	0,67 $\pm$ 1,0 <sup>B</sup>	1,67 $\pm$ 1,22	1,72 $\pm$ 0,91
<b>Atividade</b>						
Corpo	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,1 $\pm$ 0,32 <sup>B</sup>	0,00 $\pm$ 0,00	0,11 $\pm$ 0,33
Antro	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,0 $\pm$ 0,00 <sup>B</sup>	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00
Margo	0,00 $\pm$ 0,00	0,33 $\pm$ 0,71	0,00 $\pm$ 0,00	1,0 $\pm$ 1,32 <sup>A</sup>	0,11 $\pm$ 0,33	0,18 $\pm$ 0,60
<b>Metaplasia</b>						
Corpo	0,57 $\pm$ 0,8 <sup>B</sup>	0,73 $\pm$ 1,01	1,00 $\pm$ 1,16	1,90 $\pm$ 1,20	1,11 $\pm$ 1,17	1,67 $\pm$ 1,32
Antro	1,89 $\pm$ 0,9 <sup>A</sup>	1,46 $\pm$ 0,82	1,29 $\pm$ 1,11	0,89 $\pm$ 0,78	0,78 $\pm$ 1,09	1,27 $\pm$ 1,10
Margo	1,1 $\pm$ 0,9 <sup>AB</sup>	1,11 $\pm$ 0,78	0,43 $\pm$ 0,54	1,56 $\pm$ 0,73	1,67 $\pm$ 0,87	2,00 $\pm$ 1,10

<sup>AB</sup>Médias seguidas por letras maiúsculas, na mesma coluna, diferem ( $P < 0,05$ )

Grupo 1: animais sem lesões gástricas macroscópicas à primeira endoscopia; Grupo 2: animais com lesões gástricas macroscópicas à primeira endoscopia. Endoscopia 1: 14 dias antes do desmame; Endoscopia 2: um dia após o desmame; Endoscopia 3: 14 dias após o desmame

O escore medido total, obtido pela somatória dos escores do grau de atividade, atrofia, inflamação e metaplasia, está descrito na Tab. 15.

Desta forma, à primeira endoscopia, as biópsias da região do corpo, no G1, apresentaram um escore médio de 2,00 e no G2 de 2,81. As biópsias de antro apresentaram um escore médio de 4,44 (G1) e 4,00 (G2) e as provenientes de *margo plicatus* apresentaram um escore de 3,00 (G1) e 3,30 (G2). Não foram detectadas diferenças ( $P > 0,05$ ) no G1, entretanto no G2 a primeira endoscopia diferiu da terceira ( $P < 0,05$ ).

Já após o desmame, à segunda endoscopia, as biópsias da região do corpo, no G1, apresentaram um escore médio de 3,00 e no G2 de 2,81. As biópsias de antro apresentaram um escore médio de 4,00 (G1) e 3,67 (G2) e as provenientes de *margo plicatus* apresentaram um escore de 3,00 (G1) e 4,78 (G2). Não foram detectadas diferenças ( $P > 0,05$ ) entre os grupos, exceto à segunda endoscopia, nas biópsias provenientes de *margo plicatus* ( $P < 0,05$ ).

Após 14 dias do desmame, à terceira endoscopia, as biópsias da região do corpo, no G1, apresentaram um escore

médio de 3,00 e no G2 de 4,89. As biópsias de antro apresentaram um escore médio de 3,89 (G1) e 4,36 (G2) e as provenientes de *margo plicatus* apresentaram um escore de 5,00 (G1) e 5,73 (G2). Foi encontrada uma diferença ( $P<0,05$ ) no G1 entre a segunda e a terceira endoscopias, não sendo observadas diferenças ( $P>0,05$ ) no G2 (Fig. 27 e Tab. 15).

O escore total representou uma evolução do processo inflamatório, iniciando a cronificação. Embora não tenha sido encontrado na literatura pesquisada a aplicação deste escore em equinos, credita-se a sua relevância para

a interpretação histológica do estômago equino. Foi possível observar um aumento gradativo da pontuação, pois à medida que ocorria a redução do processo agudo, aumentou a atrofia, a metaplasia e o infiltrado linfocitário. Por outro lado, ficou evidente que a região do antro é a que menos contribui para o processo da gastrite, ocorrendo uma redução do escore, a medida que o processo evoluía. É possível que tal fato se deva ao distanciamento do foco de atividade, estando a região do corpo, esta sim, na posição limítrofe e afetada pelo processo de gastrite e suas lesões decorrentes.

Tabela 15: Escores médios das biópsias, de acordo com os achados histológicos, na mucosa gástrica de potros ao desmame, de acordo com a região do estômago, o grupo e a data da endoscopia.

Endoscopia	Corpo		Antro		Margo	
	G1	G2	G1	G2	G1	G2
1	2,00±1,63 <sup>A</sup> (n=7)	2,81±0,98 <sup>B</sup> (n=11)	4,44±1,88 <sup>A</sup> (n=9)	4,00±1,95 <sup>A</sup> (n=11)	3,00±2,51 <sup>AB</sup> (n=8)	3,33±1,94 <sup>B</sup> (n=9)
2	3,00±1,53 <sup>A</sup> (n=7)	3,30±1,16 <sup>AB</sup> (n=10)	4,00±2,31 <sup>A</sup> (n=9)	3,67±1,23 <sup>A</sup> (n=9)	3,00±1,73 <sup>Ba</sup> (n=7)	4,78±0,67 <sup>ABb</sup> (n=9)
3	3,00±1,73 <sup>A</sup> (n=9)	4,89±2,47 <sup>A</sup> (n=9)	3,89±1,97 <sup>A</sup> (n=9)	4,36±1,63 <sup>A</sup> (n=11)	5,00±2,18 <sup>A</sup> (n=9)	5,73±2,27 <sup>A</sup> (n=11)

AB – médias seguidas de letras maiúsculas diferentes, em uma mesma coluna, diferem ( $P<0,05$ ).

Ab – médias seguidas de letras minúsculas diferentes, em uma mesma linha, diferem ( $P<0,05$ ).

**G1:** animais sem lesão macroscópica à primeira endoscopia

**G2:** animais com lesão macroscópica à primeira endoscopia

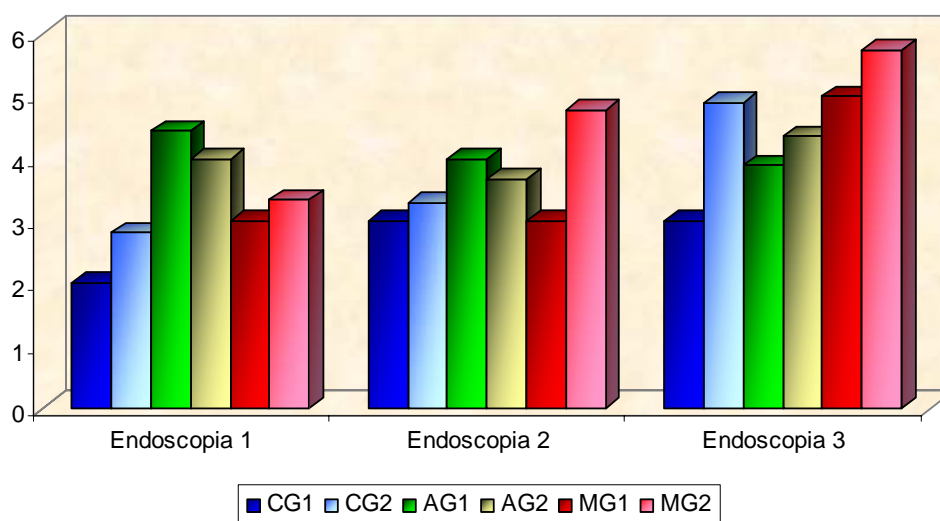


Figura 27: Valores médios do escore obtido à histologia, de acordo com o grupo e a endoscopia, em potros submetidos ao estresse do desmame.  
C = corpo; A = antro; M = margo plicatus; G1 = grupo 1; G2 = Grupo 2

O teste de Correlação de Pearson demonstrou uma correlação entre média a baixa ao comparar os valores dos escores endoscópicos, histopatológicos e as dosagens de gastrina., apesar da alta significância.

Assim, o Escore 1 da endoscopia correlacionou positivamente com o Escore 3 (38% e  $P=0,0064$ ) e com os escores histopatológicos: Inflamação grau 1 (60% e  $P=0,0001$ ); Inflamação grau 2 (54% e  $P=0,0001$ ); Atrofia grau 1 (55% e  $P=0,0001$ ); Atrofia grau 2 (66% e  $P=0,0001$ ); Metaplasia grau 1 (69% e  $P=0,0001$ ). O Escore 3 da endoscopia correlacionou apenas o resultado histopatológico de Metaplasia grau 1 (36% e  $P=0,0101$ ).

Como a atividade dos polimorfonucleares foi baixa, observa-se uma correlação igualmente baixa

(22,9% e  $P=0,0981$ ) entre os graus 1 de Atividade e Atrofia.

Ainda que os valores intermediários estejam incompletos, aparentemente, ocorre uma correlação inversa entre gastrina e o processo inflamatório. À medida que este aumenta, a gastrina diminui seus valores (gastrina *versus* Escore 2 da endoscopia: -23% e  $P=0,0863$  e gastrina *versus* Inflamação grau 2: -27,6% e  $P=0,0388$ ).

Estes resultados, avaliados em conjunto, sugerem que mesmo buscando fazer uso de escalas consagradas, tanto o exame endoscópico quanto o histológico guardam um certo teor de subjetividade, intrínseca ao processo. Por outro lado, os dados faltantes ou não significativos, sugerem que há necessidade de um maior número de biópsias a serem avaliadas.

#### 4.4 AVALIAÇÃO IMUNOLÓGICA

Na comparação dos perfis de reatividade do soro de potros reveladas para IgG, frente a extrato de proteínas de *Escherichia coli* (Fig. 28), em três momentos diferentes: antes do desmame (AD=dia 1); imediatamente depois do desmame (IDD=dia 15); e depois do desmame tardio (DDT=dia 29), não foi possível identificar um padrão de comportamento nos soros que pudesse discriminar entre os três momentos diferentes estudados. Na Fig. 28, o comportamento dos soros foi analisado no gráfico bidimensional do fator 01 pelo fator 02. Esses são fatores que agregam mais informação sobre a variância do conjunto de dados originais, no caso diferenças nas seções de reatividade. As diferenças dos escores, para os três grupos, em ambos os fatores foram verificadas utilizando-se o teste de Kruskal-Wallis, e não foram significativas ( $P>0,05$ ). Esse resultado é mais facilmente observado na Fig. 29, onde os dados foram agrupados com a demonstração de seus respectivos desvios.

Ainda com relação aos ensaios feitos com o extrato de *Escherichia coli*, os dados obtidos foram analisados de acordo com a distribuição dos grupos. Cada um dos grupos foi analisado em três momentos: dia 1, dia 15 e dia 29. Não foram observadas diferenças ( $P>0,05$ ) pelo teste de PCA, nem quando foram analisadas as diferenças dos escores pelo teste de Kruskal-Wallis ( $P>0,05$ ).

Como é grande o número de evidências que associam quadros de alterações gástricas a processos autoimunitários, foi decidido neste trabalho confrontar as reatividades dos soros para autoantígenos eqüinos, utilizando-se para esse intuito um extrato de proteínas hepáticas. De posse desse extrato, as amostras foram testadas, seguindo-se o mesmo protocolo utilizado no último ensaio com *Escherichia coli*.

Na primeira observação com o extrato de fígado não foi possível discriminar entre os perfis de reatividade de IgG, nos três momentos em que as amostras foram obtidas: dias 1, 15 e 29. Entretanto, quando as mesmas amostras foram testadas na segunda forma de agrupamento, grupo *versus* tempo, uma diferença entre as amostras coletadas antes do desmame surgiu de forma extremamente clara e significativa ( $p=0,038$  / Mann Whitney) (Figs. 30 e 31). Ainda com relação a esse resultado, vale observar que à medida que o quadro gástrico evoluiu após o desmame, para todos os animais, o comportamento das reatividades no PCA se tornou semelhante. Isso indica que é possível, sim, com essa forma de observar a imunidade, discriminar animais saudáveis de animais com gastrite. O que fica extremamente claro, quando os dados de escore clínico dos grupos (Fig. 32) são comparados simultaneamente com os escores no Fator 1 da análise de componentes principais (Figs. 33 e 34).

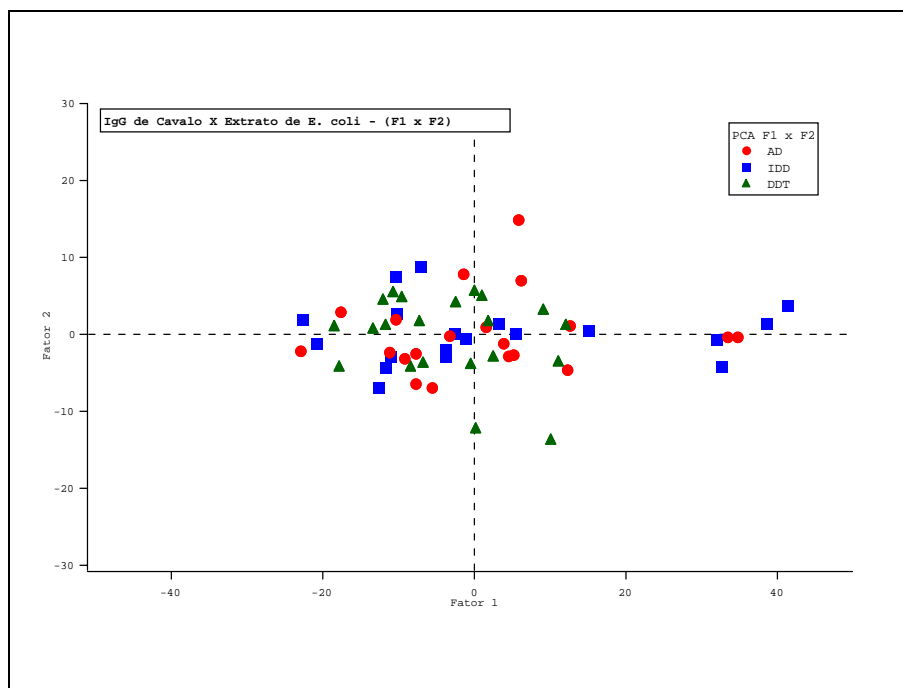


Figura 28: Comportamento dos soros eqüinos confrontando Fator 01 pelo Fator 02, frente ao extrato de *E. coli*.

AD: antes do desmame – dia 1; IDD: imediatamente depois do desmame, – dia 15; DDT: depois do desmame tardio – dia 29.

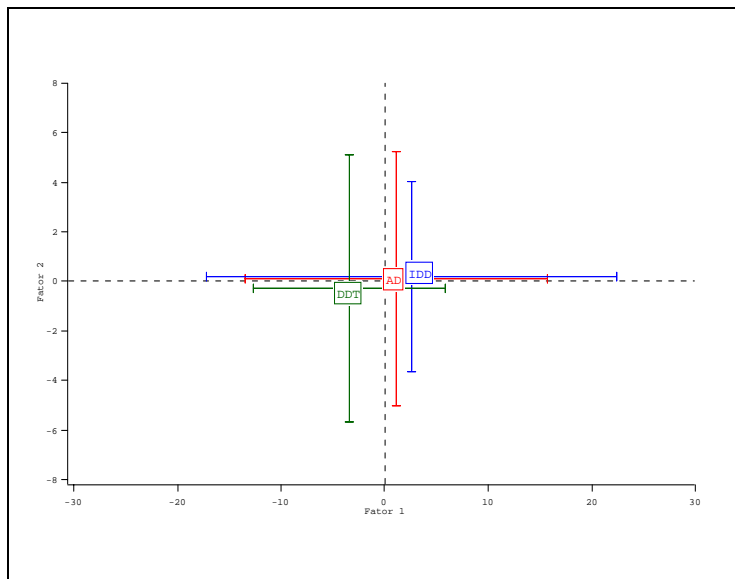


Figura 29: Comportamento dos soros eqüinos agrupados, com seus respectivos desvios, frente ao extrato de *E. coli*.

AD: antes do desmame – dia 1; IDD: imediatamente depois do desmame, – dia 15; DDT: depois do desmame tardio – dia 29.

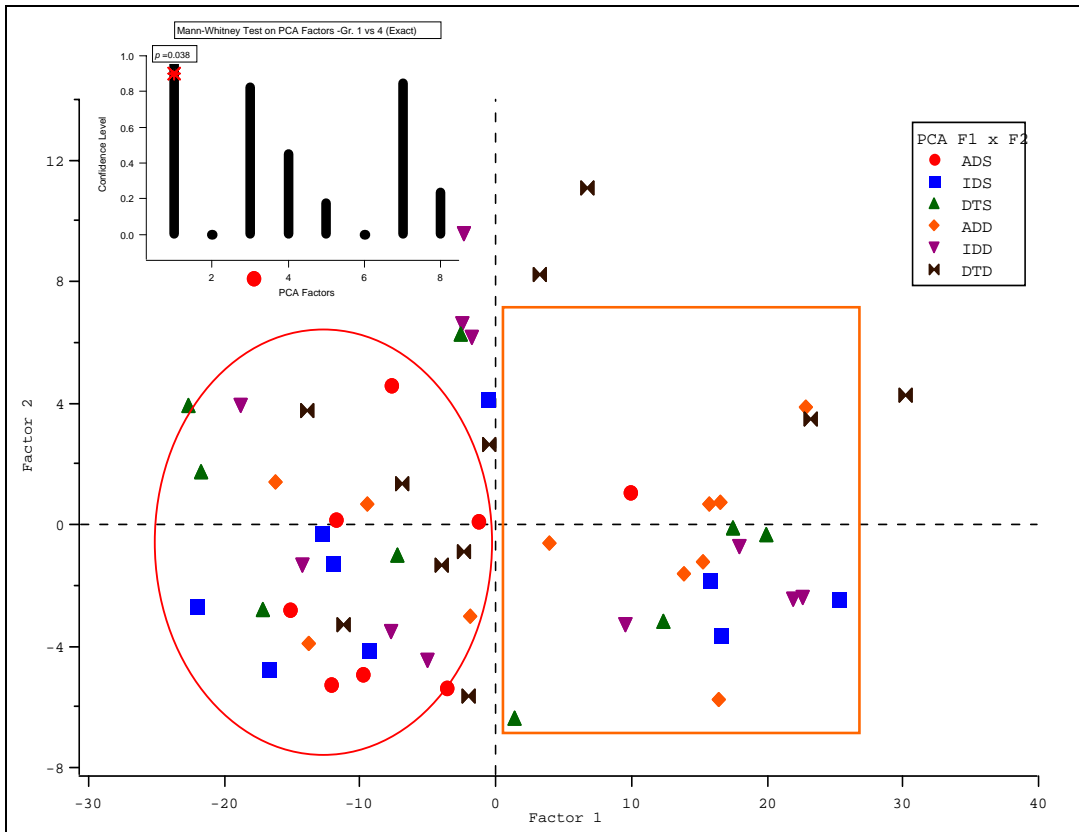


Figura 30: Comparação dos soros equinos confrontando Fator 01 pelo Fator 02 frente ao extrato de proteínas hepáticas.

ADS ou ADD: antes do desmame sadio/doente – dia 1; IDS ou IDD: imediatamente depois do desmame sadio/doente, – dia 15; DTS ou DTD: depois do desmame tardio sadio/doente– dia 29.

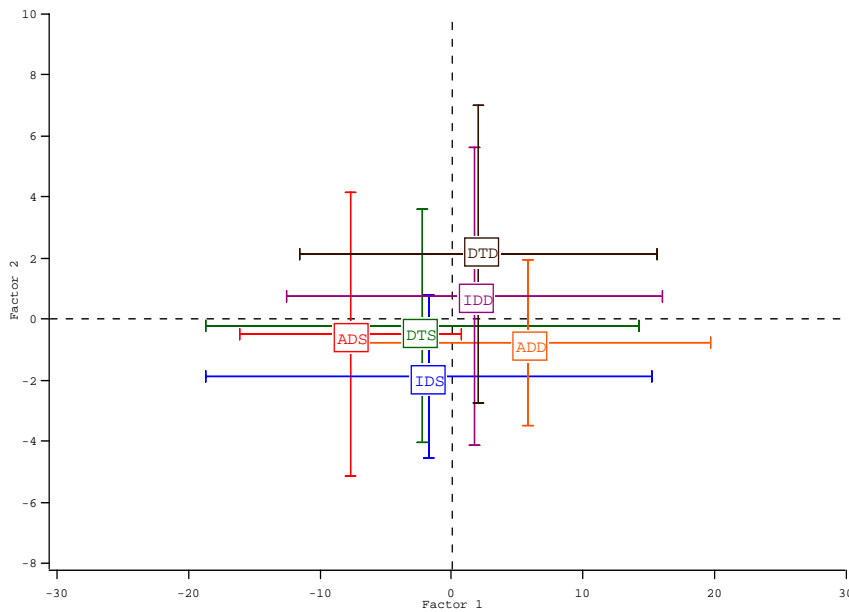


Figura 31: Comportamento dos soros equinos agrupados, com seus respectivos desvios, frente ao extrato hepático.

ADS ou ADD: antes do desmame sadio/doente – dia 1; IDS ou IDD: imediatamente depois do desmame sadio/doente, – dia 15; DTS ou DTD: depois do desmame tardio sadio/doente– dia 29.

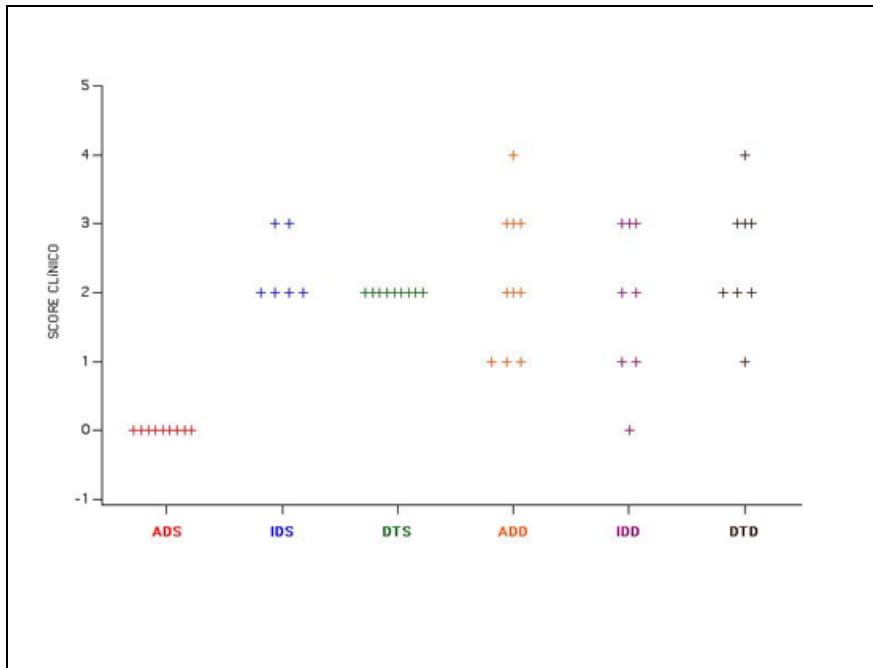


Figura 32: Comparação dos grupos clínicos com relação ao escore endoscópico. ADS ou ADD: antes do desmame sadio/doente – dia 1; IDS ou IDD: imediatamente depois do desmame sadio/doente, – dia 15; DTS ou DTD: depois do desmame tardio sadio/doente– dia 29.

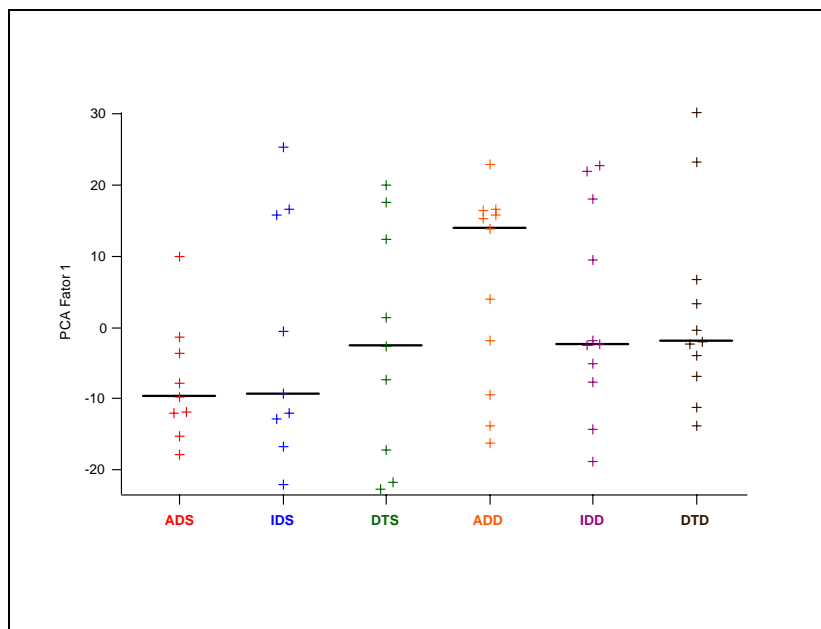


Figura 33: Comparação dos grupos clínicos frente aos escores do Fator 01 do PCA. ADS ou ADD: antes do desmame sadio/doente – dia 1; IDS ou IDD: imediatamente depois do desmame sadio/doente, – dia 15; DTS ou DTD: depois do desmame tardio sadio/doente– dia 29.

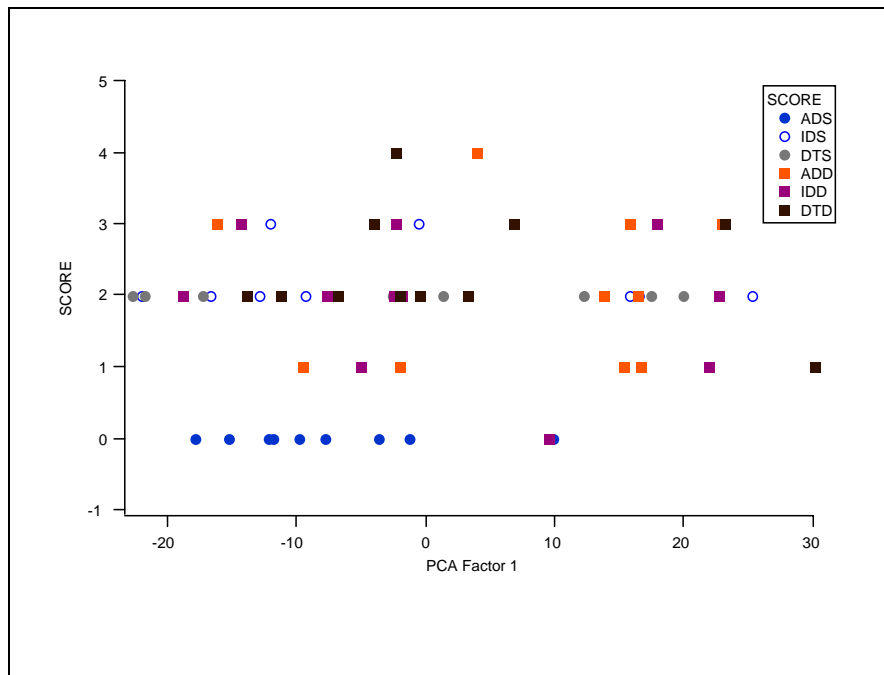


Figura 34: Comparação dos escores endoscópicos frente aos escores do Fator 01 do PCA.

ADS ou ADD: antes do desmame sadio/doente – dia 1; IDS ou IDD: imediatamente depois do desmame sadio/doente, – dia 15; DTS ou DTD: depois do desmame tardio sadio/doente– dia 29.

No intervalo entre a primeira e segunda endoscopia, não eram esperadas modificações significativas, uma vez que não devia ocorrer nenhuma modificação no modo de vida dos animais e nem haver tempo suficiente para que alguma modificação no repertório decorrente da modificação na população de linfócitos ocorresse. Já entre a segunda e a terceira poderia eventualmente ser observada alguma modificação decorrente da alteração na população de linfócitos.

Entretanto, a análise estatística de dados multivariados possui aspectos que são específicos desse tipo de análise: a redução de dimensionalidade, que envolve a determinação das variáveis

mais importantes de um dado problema, e a explicação da associação entre variáveis observáveis em termos de um conjunto de variáveis não observáveis (Grotti et al., 1999; Watson, 1999; Mariottini e Leardi, 2000). Nos problemas que foram abordados neste trabalho, as variáveis observáveis são as diferentes bandas, e as não observáveis foram fatores como a presença ou não de ulcerações e erosões na mucosa gástrica de potros.

Essa estratégia permite que em um único ensaio se trabalhe com um número maior de variáveis, no caso as bandas de reatividade dos perfis, o que enriquece de forma significativa a observação do comportamento do soro. Ou seja, o volume de informação sobre

o comportamento do soro e, por consequência, do sistema imune é consideravelmente maior (Haury et al., 1994; Coutinho e Kazatchkine, 1995; Nobrega et al., 1998). Nesse momento, inferências podem ser feitas com relação à semelhança e ou diferença dos soros, tendo como parâmetro a presença ou não de bandas nos perfis, ou a altura de picos na curva densitométrica correspondente. Obviamente, qualquer comparação com o comportamento dos soros fica no âmbito da qualidade, não sendo possível, nesse momento, quantificar o quanto os perfis de reatividade do soro são semelhantes ou distintos (Nobrega et al., 1993; Mouthon et al., 1995; Nobrega et al., 1998; Brissac et al., 1999).

Aparentemente, os anticorpos naturais não são produto de encontros fortuitos com antígenos, pois observam-se padrões estáveis de reatividade com proteínas complexas, em organismos normais, logo no início da sua ontogênese, e assim, permanecem por toda a vida (Ochsenbein et al., 1999; Janeway, 2001; Kazatchkine e Kaveri, 2001; Marchalonis et al., 2002; Bayry et al., 2004).

Modificações nos perfis de reatividade apenas são possíveis em determinados momentos, sob condições muito particulares (Hecker, 1996), especialmente na espécie equina (Silva-Neto, 2000 e 2005), que mantém inalterada a IgM, mesmo quando submetida à infecção pelo vírus da anemia infecciosa equina ou hiperimunizados. Já a IgG apresenta maior reatividade, em diversas espécies animais, inclusive a equina (Silva-Neto, 2000 e 2005).

O quadro de gastrite gera, em humanos, alterações no soro sanguíneo (Annibale et al., 2005), o que permite a análise global da sua população de imunoglobulinas séricas (Mouthon et al., 1995; Nobrega et al., 1998; Brissac et al., 1999).

Esses fatos têm grande importância diagnóstica e prognóstica, especialmente no início das infecções de curso lento e prolongado, indicando inclusive a natureza sistêmica do processo (Haury et al., 1994; Vaz et al., 2001).

A gastrite autoimune em eqüinos aparentemente segue um padrão semelhante à espécie humana e dos modelos animais experimentais. Não foram observados, entretanto, quadros de anemia perniciosa, como evidenciado em humanos, outras doenças autoimunes concomitantes (DeBlock et al., 1999; Judd et al., 1999; Segni et al., 2004) ou câncer (D'Elis et al., 2005).

Os resultados histopatológicos, somados ao quadro endoscópico, na presença de uma possível bactéria *Helicobacter pylori*-like, sugerem que na espécie equina ocorram os mesmos processos de mediação dos linfócitos TCD4<sup>+</sup>, tanto diretamente, pela secreção de citocinas e fatores de crescimento, quanto indiretamente, pela ativação dos macrófagos (Morley et al., 1992; Friis-Hansen et al., 1998; Judd et al., 1999; van Driel et al., 2005; DiPaolo et al., 2005). Alternativamente, a infecção pelo *Helicobacter pylori*-like pode levar à autoimunidade gástrica via mimica molecular (D'Elis et al., 2005), agravando, em indivíduos geneticamente susceptíveis, a infecção

inicial, conduzindo à gastrite atrófica (D'Elios et al., 2004; Guariso et al., 2004).

A grande estabilidade da IgG eqüina, aliada à robustez dos mecanismos que geram os perfis de reatividade, levam a crer que é necessário um desafio de grande monta, para permitir a identificação de alterações nestes perfis. Os resultados do presente trabalho indicam que os fatores desencadeantes da gastrite em potros foram capazes de abalar o comportamento imune eqüino e reduzir as defesas ao ponto de permitir a instalação de uma autoagressão, traduzida como gastrite imunomediada, possivelmente temporária.

#### **4.5 AVALIAÇÃO DO ESTRESSE**

Este trabalho não teve como objetivo executar etogramas detalhados com respeito ao comportamento exibido pelos potros no decorrer do desmame. Entretanto, foi impossível deixar de observar comportamentos aberrantes, mesmo sem quantificá-los.

No momento do desmame, observou-se, nos potros, agitação extrema, tentativas repetidas de ultrapassar a cerca do piquete, vocalização, galopes, ataques repentinos aos seus companheiros e depressão (1/20), que se prolongou por todo período de observação.

Quando transportados para a endoscopia, na Escola de Veterinária, os primeiros pares ou trios eram alojados dentro de uma baía apenas. Nesses, foi possível verificar comportamento agressivo por parte do potro mais dominante contra seus companheiros, com ameaças, coices e mordidas. Procurou-se, portanto, sempre que

possível, manter os potros em baias individuais. Um potro inclusive sofreu fissura óssea do terço distal do úmero, medialmente, decorrente de coice no piquete (G2). No G1, 33,33% dos potros, e no G2, 18,18% dos potros, se alteravam bastante durante a coleta de sangue, a ponto de causar traumatismos nas pessoas responsáveis pela contenção e coleta.

Alguns animais exaltaram sua agressividade. Um deles (G2), recepcionou a equipe invariavelmente caminhando sobre os posteriores, empinado, numa tática ameaçadora muito efetiva.

A queda de imunidade foi evidenciada pelo desencadeamento de doenças respiratórias, como já comentado, após o desmame, como inflamação das bolsas guturais e virose de vias aéreas superiores (G1: 11,11% e G2: 27,27%). Durante todo o período de observação, o peso manteve-se inalterado apesar da fase de crescimento, muitos deles ficando com pêlo quebradiço e sem brilho.

Ocorreram também alterações no hemograma, com leucocitose fisiológica e significativa elevação de gastrina ( $P < 0,05$ ) atribuíveis ao estresse.

Como já foi relatado, 43,06% dos potros apresentaram babesiose, sendo que, no grupo previamente doente (com relação à gastrite), no dia seguinte ao desmame, quadruplicou o índice de babesiose. Finalmente, o estresse do desmame aumentou o quadro de gastrite e ulceração gástrica a cada endoscopia (55%, 95% e 100%) com diferenças ( $P < 0,005$ ) à primeira endoscopia entre o Grupo 1 e Grupo 2 e, dentro do grupo

(primeira endoscopia *versus* segunda e a terceira).

Condição física ruim da égua durante o período de aleitamento foi observada no G2 em 36,36% (4/11), evidenciada pelo baixo escore corporal, pouco leite e doença respiratória, com reflexos danosos sobre as condições psicofísicas dos potros.

Relacionar o estresse apenas ao manejo (Fraser et al., 1975) é uma simplificação alienante (Pagan, 1998). Desde os conceitos iniciais (Darwin, 1872/2000; Cannon, 1929; Selye, 1936) até o momento atual, passando pela neuroimunoendocrinologia (Lloyd, 1993; Ziebell et al., 1997; Néelson e Cox, 2002), esse conceito se ampliou e atualmente diz respeito tanto ao entorno (Fraser et al., 1975) e aos aspectos psicológicos, quanto às necessidades emocionais dos animais, principalmente os domésticos (Dantzer e Mormède, 1983). Com relação ao meio ambiente, os autores são enfáticos ao considerar as condições adversas ou inóspitas como causa de desequilíbrio, que, entre outras áreas, agride também a mucosa gástrica (Yousef, 1985; Pfeiffer, 1992) (Tab. 16 e 17).

Fatores emocionais, de forma indiscutível, têm importante relação com as crises ulcerosas do estômago (Brady, 1958/1977; Leonhardt, 1993; Tolentino e Faifer, 1994; Melmed e Gelpin, 1996). A emoção induz manifestações viscerais, e parafraseando Dejours (1988), citado por Castiel (1994), pode-se sugerir que os eqüinos têm inscrito no seu etograma emoções muito fortes e evidentes.

Gastrite e ulcerações gástricas claramente são multifatoriais, como

observado por uma série de autores (Andrews e Nadeau, 1999; Collier, 1999; Meireles Filho e André, 2000; Orsini, 2000; Nicol e Davidson, 2002), porém, subjacente a todos eles, está, como condição desencadeante, o estresse (Murray, 1989; Geor e Papich, 1990; Furr e Murray, 1990; Furr et al., 1992; Pfeiffer, 1992; Borrow, 1993; Murray, 1997), diferentemente do descrito por Dearo et al., (1998), que não perceberam correlação entre estresse e diversos quadros clínicos apresentados.

Se, na natureza, o potro passa pelo desmame em torno dos nove meses de idade, sem perder a presença da mãe, conforme descrito por eminentes etologistas (Duncan, 1980; Carson e Wood-Gush, 1983; Duncan et al, 1984; Pugh e Williams, 1992; Houpt, 2002) não é surpresa que o desmame forçado seja o período mais estressante, quiçá de toda a vida do cavalo (Kiley-Worthington, 1987; Apter e Householder, 1996). O rompimento brusco do vínculo materno pelo desmame forçado reduz o apetite, o metabolismo e a imunocompetência (Hoffman et al, 1995).

Aparentemente, o desmame individual é menos danoso do que aos pares (Malinowski et al., 1990; Pugh e Williams, 1992; Hoffman et al, 1995; Sevi, 2003). Outros autores entendem ser o desmame em grupos, solto no piquete, removendo poucas éguas por vez, como a melhor opção (Hoffman et al, 1995; Heleski et al., 2002; McGee e Smith, 2004).

Tabela 16: Sinais clínicos psico-físicos de potros do Grupo 1 submetidos ao estresse do desmame.

Grupo	1			1			1			1			1			1			1								
Sexo	F			F			F			F			M			F			F			F					
Progênie	MMxBH <sup>1</sup>			MMxBH <sup>1</sup>			MMxBH <sup>1</sup>			MMxBH <sup>1</sup>			½BHxBH <sup>1</sup>			½BHxBH <sup>1</sup>			BHxBH <sup>1</sup>			½PSIxBH <sup>1</sup>			MMxBH <sup>2</sup>		
Endoscopia	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>			
Halitose																											
Bruxismo																											
Sialorréia																											
Adenopatia Submandibular																											
Corrimento nasal purulento																											
Guturite																											
Babesiose																											
Verminose																											
Agitação																											
Agressividade																											
Submissão																											
Depressão																											
Trauma:																											
Ferimento discreto																											
Trauma contuso (coices)																											
Politraumatismo articular																											
Úlceras corneal																											
Fissura óssea grave																											
Condição do potro:																											
Dismaturo																											
Persistência de úracos																											
Hemorragia pulmonar																											
Magro																											
Subnutrido																											
Ventre abaulado																											
Pelos ásperos/quebradiços																											
Epifisite																											
Condição materna:																											
Baixo escore corporal																											
Pouco leite																											
Corrimento nasal purulento																											

BH: Brasileiro de Hipismo; PSI: Puro Sangue Inglês; CB: Mestiça CriouloxBretão; MM: Mangalarga Marchador; 1: Garanhão 1; 2: Garanhão 2.

Tabela 17: Sinais clínicos psico-físicos de potros do Grupo 2 submetidos ao estresse do desmame.

Grupo	2			2			2			2			2			2			2														
Sexo	M			M			M			F			F			F			M			M			M			F					
Progênie	BHxBH <sup>1</sup>			½BHxBH <sup>1</sup>			½BHxBH <sup>1</sup>			½PSIxBH <sup>1</sup>			½BHxBH <sup>1</sup>			½BHx ?			½BHx ?			MMxBH <sup>1</sup>			MMxBH <sup>1</sup>			MMxBH <sup>1</sup>			CBxBH <sup>1</sup>		
Endoscopia	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>			
Halitose				■									■	■	■																		
Bruxismo				■						■	■	■																					
Sialorréia																																	
Adenopatia submandibular				■																													
Corrimento nasal purulento																																	
Guturite																																	
Babesiose				■																													
Verminose																																	
Agitação				■																													
Agressividade																																	
Submissão																																	
Depressão																																	
Trauma:																																	
Ferimento discreto																																	
Politraumatismo articular																																	
Entrópio																																	
Úlcera corneal																																	
Fissura óssea grave																																	
Condição do potro:																																	
Dismaturo																																	
Persistência de úraco																																	
Magro																																	
Subnutrido																																	
Ventre abaulado																																	
Pelos ásperos/quebradiços																																	
Epifisite																																	
Condição materna:																																	
Baixo escore corporal																																	
Pouco leite																																	
Corrimento nasal purulento																																	

BH: Brasileiro de Hipismo; PSI: Puro Sangue Inglês; CB: Mestiça CriouloxBretão; MM: Mangalarga Marchador; 1: Garanhão 1; 2: Garanhão 2.

Atualmente, o trauma emocional é compreendido como um evento extremo e de risco de vida (Lerner, 1996; Flannery, 1999; Oliveira, 2000). Um potro que abruptamente perde a sua mãe e ainda sofre agressões do seu, até então, companheiro de folguedos, tão desamparado quanto o primeiro, realmente só pode sentir-se desamparado, com perturbação emocional e incerteza.

O aumento da agressividade observada nos potros ao desmame é consistente com as observações de Pynoos et al (1996), Schreurs e Smith-Bell (2005), Casada e Roache (2006), Orth e Wieland (2006) de que raiva e hostilidade são atributos centrais de pacientes com estresse pós-traumático, pela ativação do modo biológico de sobrevivência.

Como o estresse pós-traumático gera, na forma de autodefesa, altos níveis de neurohormônios e opióides endógenos, que mantém vívida a memória emocional (Van den Kolk, 1994), mormente, durante a infância (Bateson, 1979; Turner et al, 2003; Barr et al. 2004; Chamas et al., 2004; Peters et al., 2004), não é de surpreender que esse período crítico seja responsável por tantos distúrbios de comportamento, na vida adulta do cavalo, como observado por Kiley-Worthington, (1987), Heleski et al. (2002) e McGee e Smith (2004).

#### **4.6 CONSIDERAÇÕES BIOÉTICAS**

O bem-estar humano passa pelo bem-estar animal, já que somos interdependentes destes e dos demais seres da natureza (Boff, 2005). Atualmente, o ser humano tem

levantado questões éticas, referentes ao aspecto ecológico-moral – a biofilia (Wilson, 1984; Lourenço e Kahn, 2000). A ética da conservação tornou-se um tema atual e premente que precisa chegar aos meios acadêmicos, na forma de um ensino direcionado ao bem-estar e respeito pelos pacientes veterinários (Rasmussen et al., 2003). Nesse aspecto, se insere o conceito de transdisciplinariedade (Nicolescu, 2005), numa coevolução do ser humano e da natureza.

Aparentemente, durante o seu processo civilizatório, o ser humano perdeu o contato com a natureza (Schweitzer, 1987 citado por Linzey, 1991; Bacon, (1857/1984) citado por Capra, 1988) e os animais e tomou deles a liberdade e o respeito (Bentham, 1789; Singer, 2004), traduzido no reconhecimento da senciência (Brügger, 2004; Singer, 2004; Reagan, 2006).

A relação dúbia com relação ao desmame dos potros se insere nessa ótica (Lewis, 2000), quando os fatores econômicos superam o desejo, mesmo genuíno, de não causar mal voluntário ao animal em que já se investiu tanto, seja financeira ou emocionalmente. Entende-se ser possível desenvolver, no futuro, formas alternativas de contornar esses problemas, respeitando a natureza do cavalo.

## **5 CONCLUSÕES**

Foram esclarecidos alguns aspectos da gastrite em potros, que permanece sendo uma síndrome com etiologia e patogênese complexas, sendo

importante manter uma visão integral do indivíduo adoecido.

O estresse da deprivação materna aparentemente foi capaz de gerar um alto nível de desconforto, traduzido por perturbação emocional, incerteza e deslocamento social, com surgimento de diversos quadros clínicos correlacionados.

Foi constatado o surgimento de uma gastrite imuno-mediada de forma extremamente clara e significativa. É possível, inclusive, com essa forma de observar a imunidade, discriminar animais saudáveis de animais com gastrite.

Esse dado reflete de forma precoce o aspecto endoscópico das lesões e inclusive da histologia. A visualização de erosões, úlceras e gastrite, um dia após o desmame, foi constatada de forma clara.

Com relação à histopatologia, foi encontrada uma gastrite linfocítica, principalmente nas regiões do corpo e *margo plicatus*, sendo menos freqüente no antro dos potros examinados. Ainda, a coloração histoquímica evidenciou metaplasia intestinal, possivelmente como resquício da expressão fenotípica de mucinas ácidas fetais, eventualmente agravada pelo quadro de gastrite. A mudança de produção de mucina neutra para ácida pode inclusive ser um fator coadjuvante do diagnóstico e prognóstico.

A dosagem de gastrina apresentou uma elevação significativa em resposta ao estímulo estressor avaliado.

O hemograma acompanhou o quadro, com uma nítida alteração da série branca em direção a uma leucocitose

fisiológica por estresse e discreta anemia em consequência de infecção por babesiose.

Resultados positivos para atividade de urease, mesmo que tardios, sugerem a presença de microorganismos redutores da urease colonizando de forma precoce o estômago equino.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACLAND, H.M.; GUNSON, D.E.; GILLETTE, D.M. Ulcerative duodenitis in foals. *Vet Pathol.*, v.20, p. 653-661, 1983.

ADAMEC, R.; HEAD, D.; BLUNDELL, J.; BURTON, P.; BERTON, O. Lasting anxiogenic effects of feline predator stress in mice: sex differences in vulnerability to stress and predicting severity of anxiogenic response from the stress experience. *Physiology & Behavior*, v. 88, p. 12-29, 2006.

ADAMEC, R.; WALLING, S.; BURTON, P. Long-lasting, selective, anxiogenic effects of feline predator stress in mice. *Physiology & Behavior*, v. 83, p. 401-410, 2004.

ADAMSON, P.J.W. e MURRAY, M.J. Stomach. In: TRAUB-DARGATZ, J.L. e BROWN. C.M. *Equine Endoscopy*. St. Louis : Mosby, 1990. 192 p.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV)*, 4. ed., APA:Washington, 1994.

- ANDREWS, F.M. e NADEAU, J.A. Clinical syndromes of gastric ulceration in foal and mature horses. *Equine Vet. J.*, Suppl. v. 29, p. 30-33, 1999.
- ANDREWS, F.M.; NADEAU, J.S.; BLACKFORD, J.T.; MATHEW, A.G.; ARGENZIO, R.A. Gastric ulcer disease: dietary implications. *Proc. Am. Coll. Vet. Intern. Med.* v.16, p. 159-160, 1998.
- ANDREWS, F.M.; REINEMEYER, C.R.; McCracken, M.D.; BLACKFORD, J.T.; NADEAU, J.A.; SAABYE, L.; SÖTELL, M.; SAXTON, A. Comparison of endoscopic, necropsy and histology scoring of equine gastric ulcers. *Equine Vet. J.*, v. 34, p. 475-478, 2002.
- ANDREWS, F.; BERNARD, W.; BYARS, D.; COHEN, N.; DIVERS, T.; MacALLISTER, C.; McGLADDERY, A.; MERRITT, A.; MURRAY, M.; ORSINI, J.; SNYDER, J.; VATISTAS, N. Recommendations for the diagnosis and treatment of equine gastric ulcer syndrome (EGUS). The Equine Gastric Ulcer Council. *Equine Vet. Education*, v.11, n.5, p.262-272, 1999.
- ANNIBALE, B.; LLAHNER, E.; NEGRINI, R.; BACCINI, F.; BORDI, C.; MONARCA, B.; DELLE FAVE, G. Lack of specific association between gastric autoimmunity hallmarks and clinical presentations of atrophic body gastritis. *World J. Gastroent.* v, 14, n. 11 (34), p. 5351-5357, 2005.
- ANSORG, R.; HEINEGG, E.H. von; RECKLINGHAUSEN, G. von. Cat owner's risk of acquiring a *H. pylori* infection. *Zentralbl. Bakteriolog.* [Orig] , v. 283, n. 1, p. 122-126, 1995.
- APTER, R.C. e HOUSEHOLDER, D.D. Weaning and weaning management of foals: a review and some recommendations. *J. Equine Vet. Sci.*, v. 16, n. 10, p. 428-435, 1996.
- ARGENZIO, R. e EISEMAN, J. Mechanism of acid injury in porcine gastro esophageal mucosa. *Am. J. Vet. Res.* v. 57, n. 4, p. 564-573, 1996.
- ARGENZIO, R.A. Comparative pathophysiology on nonglandular ulcer disease: a review of experimental studies. *Equine Vet. J.*, Suppl. v. 29, p. 19-23, 1999.
- BACON, F. Viscount St. Albans *Novum organum* ou Verdadeiras indicações acerca da interpretação da natureza. São Paulo : Abril Cultural, 1857/1984.
- BAH, A., SARAGA, E., ARMSTRONG, D., VOULLAMOZ, D., DUROUX, P., WEBER, B., FROEHLICH, F., BLUM, A.L., SCHNEGG, J.F. Endoscopic features of *Helicobacter pylori*-related gastritis. *Endoscopy*, v. 27, p. 593-596, 1995.
- BAKER, S.J. Gastric pH in suckling foals: a window of opportunity for ulcer formation? *AAEP Proceedings*, v.38, p. 743, 1992.
- BARBOSA, A.J.A.; SILVA, J.C.P.; NOGUEIRA, A.M.M.; PAULINO, E. Jr.; MIRANDA, C.R. Higher incidence of *Gastrosipillum* sp. in swine with gastric ulcer of the *pars oesophagea*. *Vet. Pat.*, v. 32, n. 02, p. 134-139, 1995.
- BARBOZA, L.F. *Manutenção e cuidados com o instrumental cirúrgico endoscópico*. Rio de Janeiro : H. Strattner e Cia Ltda., 2004.

- BARNES-GREEN, W.; EATON, K.; KRAKOWKA, S. Porcine gastric mucosa associated lymphoid tissue (MALT): stimulation by colonization with gastric bacterial pathogen, *Helicobacter pylori*. *Vet. Immun. Immunopath.*, v. 56, p.119-131, 1997.
- BARR, C.S.; NEWMAN, T.K.; LINDELL, S.; SHANNON, C.; CHAMPOUX, M.; SUOMI, S.J.; HIGLEY, J.D. Early experience and sex interact to influence limbic-hypothalamic-pituitary-adrenal-axis function after acute alcohol administration in Rhesus macaques (*Macaca mulatta*). *Alcoholism: Clin Exp. Res.*, v. 28, n. 7, p. 1114-1119, 2004.
- BASKESRVILLE, A.; NEWWELL, D.G. Naturally occurring chronic gastritis and *C. pylori* infection in the Rhesus monkey: a potential model for gastritis in man. *Gut*, v. 29, p. 465-472, 1988.
- BATESON, P. How do sensitive periods arise and what are they for? *Anim. Behav.*, v. 27, p. 470-486, 1979.
- BAYRY, J.; LACROIX-DESMAZES, S.; DONKOVA-PETRINI, V.; CARBONNEIL, C.; MISRA, N.; LEPELLETIER, Y.; DELIGNAT, S.; VARAMBALLY, S.; OKSENHENDLER, E.; LÉVY, Y.; DEBRÉ, M.; KAZATCHKINE, M.D.; HERMINE, O.; KAVERI, S. Natural antibodies sustain differentiation and maturation of human dendritic cells. *PNAS*, v. 101, n. 39, p. 1410-1415, 2004.
- BECHT, J.L e BYARS, T.D. Gastroduodenal ulceration in foals. *Equine Vet. J.*, v. 18, n. 4, p.307-312, 1986.
- BEGG, L.M.M. e O'SULLIVAN, C.B. The prevalence and distribution of gastric ulceration in 345 racehorses. *Aust. Vet. J.*, v. 81, n.4, p. 199-201, 2003.
- BENTHAM, J. *An Introduction to the Principles of Morals and Legislation*, ed. J. H. Burns and H. L. A. Hart, London: Athlone Press. ISBN 0485132117, 1789/1970. Disponível em: <http://www.la.utexas.edu/research/polthecory/bentham/ipm/index.html>. Acesso em 08.04.2006.
- BERG, R.D. The indigenous gastrointestinal microflora. *Trends microbial.* v. 4, n. 11, 1996.
- BERGANN, T. Isolierung helikaler, campylobacterähnlicher Keime aus Schweinnemägen. *Monatsh Veterinarmed*, v. 46, n. 18, p. 649-651, 1991.
- BERSCHNEIDER, H.M.; BLIKSLAGER, A.T.; ROBERTS, M.C. Role of duodenal reflux in nonglandular gastric ulcer disease of the mature horse. *Equine Vet. J.*, Suppl. v. 29, p. 24-29, 1999.
- BICALHO, A.L.F. *Efeito de diferentes classes de antiinflamatórios não esteróides sobre a mucosa gástrica de cães. Avaliação endoscópica, histológica e bioquímica*. Dissertação (Mestrado). Belo Horizonte, Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, 2001.
- BOFF, L. *Ética da vida*. Rio de Janeiro : Sextante, 2005. 173 p.
- BORROW, H.A. Duodenal perforations and gastric ulcers in foals. *Vet Rec.*, v. 132, p. 297-299, 1993.

- BOURKE, B., JONES, N., SHERMAN, P. *Helicobacter pylori* infection and peptic ulcer disease in children. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, v. 15, n. 1, p. 1-13, 1996.
- BRADY, J.V. Úlceras em macacos “executivos”. In: GAUGH, J.L.; WEINBERGER, N.M.; WHALEN, R.E. ed. *Psicobiologia. As bases biológicas do comportamento*. Rio de Janeiro : Livros Técnicos e Científicos, 1958/1977. 414 p. (Textos do Scientific American).
- BRAVO, J.C. e CORREA, P. Sulphomucins favour adhesion of *Helicobacter pylori* to metastatic gastric mucosa. *J. Clin. Pathol.*, v. 52, p. 137-140, 1999.
- BREWER, B.D Neonatal infection. In: KOTERBA, A.M.; DRUMMOND, W.H.; KOSCH, P.C. *Equine Clinical Neonatology*. Philadelphia : Lea & Febiger, 1990. p. 295-316.
- BRISSAC, C.; NÓBREGA, A.; CARNEIRO, J.; STEWART, J., Functional diversity of natural IgM. *Internl. Immunol.*, v. 11, n. 9, p.1501-1507, 1999.
- BRONDSOON, M.A. e SCHOENKNECHT, F.D. *Campylobacter pylori* isolated from the stomach of a monkey, *Macaca nemestrina*. *J. Clin. Microbiol.*, v. 26, p. 1725-1728, 1988.
- BROWN, C.M.; SLOCOMBE, R.F.; DERKSEN, F.J. Fiber optic gastroduodenoscopy in the horse. *JAVMA*, v. 186, n. 9, p. 965-968, 1985.
- BRÜGGER, P. *Amigo animal*. Reflexões interdisciplinares sobre a educação e meio ambiente. Florianópolis : Letras contemporâneas, 2004. 159 p.
- BUCHANAN, B.R.; ANDREWS, F.M. Treatment and prevention of equine gastric ulcer syndrom. *Vet. Clinics Equine.*, v.19, p.575-597, 2003.
- BUECHNER, V. The use of antimicrobial therapy in gastrointestinal disease in the adult horse. *Equine Pract.*, v.11, n. 10, p. 9-14, 1989.
- BUENO, F.S. *Dicionário Escolar da Língua Portuguesa*. 11. Ed, Rio de Janeiro : MEC-FENAME, 1976.
- BULLIMORE, S.R.; CORFIELD, A.P.; HICKS, S.J.; GOODALL, C.; CARRINGTON, S.D. Surface mucus in the non-glandular region of the equine stomach. *Research in Vet. Sciences*, v. 70, p. 149-155, 2001.
- BYRD, J.C.; STERNBERG, L.; YUNKER, C.K.; SCHEIMAN, J.M.; BRESALIER, R.S. Aberrant expression of gland-type gastric mucin in the surface epithelium of *Helicobacter pylori* infected patients. *Gastroenterol.*, v. 13, n.2, p. 455-464, 1997.
- CAMPBELL-THOMPSON, M.L., MERRITT, A. M. Diagnosis and treatment of gastroduodenal ulceration and gastric outflow obstructions in foals and adult horses. *AAEP Proceedings*, v. 35, p. 57-69, 1990.
- CAMPBELL-THOMPSON, M.L.; MERRITT, A. M. Gastroduodenal ulceration in foals. *AAEP Proceedings*, v.33, p. 29-40, 1988.
- CAMPBELL-THOMPSON, M. secretagogue-induced [<sup>14</sup>C]aminopyridine uptake in isolated equine parietal cells. *Am. J. Vet. Res.* v. 55, n. 1, p. 132-137, 1994.

- CANNON, W.B. *Bodily changes in pain, hunger, fear and rage*. 2 ed. Boston : C.T. Branford Company. 1929.
- CAPRA, F. *A teia da vida*. Uma nova compreensão científica dos sistemas vivos. São Paulo : Cultrix, 1999.256 p.
- CAPRA, F. *O ponto de mutação*. A ciência, a sociedade e a cultura emergente. São Paulo : Cultrix, 1988. 445 p.
- CARLTON, W.; Mc GAVIN. *Patologia veterinária especial de Thomson*. 2.ed. Porto Alegre : ArtMed, 1998.
- CARSON, K.; WOOD-GUSH, D.G.M. Behaviour of Thoroughbred foals during nursing. *Equine Vet J.*, v. 15, n. 3, p. 257-262, 1983.
- CARVALHO, R.T.L.; HADDADE, C.M. *A criação e a nutrição de cavalos*. Rio de Janeiro : Globo, 1987.
- CASADA, J.H.; ROACHE, J.D. Dissociation of physiology and behavior in PTSD. *Intl. J. Psychophysiol.*, v. xx, p. xxx-xxx, 2006. (no prelo).
- CASTIEL, L. D. *O buraco e o avestruz: a singularidade do adoecer humano*. Campinas: Papirus, 1994. 203 p.
- CECCARELLI, P; PEDINI, V.; GARGIULO, A.M. Serotonin-containing cells in the horse gastrointestinal tract. *Anato. Histolog. Embryol.*, v. 24, p. 97-99 1995.
- CHAMAS, F.M.; UNDERWOOD, M.D.; ARANGO, V.; SEROVA, L.; KASSIR, S.A.; MANN, J.J.; SABBAN, E.L. Immobilization stress elevates tryptophan hydroxylase mRNA and protein in the rat raphe nuclei. *Biol. Psychiatry*, v. 55, p. 278-283, 2004.
- CHEN, Y.K.; GODIL, A.; WAT, .P.J. Comparison of two rapid urease tests for detection of *Helicobacter pylori* infection. *Dig. Dis. Sci.*, v., 43, n. 8, p.1636-40, 1998.
- CHEN, Y.Y.;WANG, H.H.; ANTONIOLI, D.A.; SPECHLER, S.J.; ZEROOGIAN, J.M.; GOVAL, R. SHAHSAFAEI,A.; ODZE, R.D. Significance of acid-mucin-positive nongoblet columnar cells in the distal esophagus and gastroesophageal junction. *Hum. Pathol.*, v. 30, n. 12, p. 1488-1495, 1999.
- CHOI, Y.K.; HAN, J.N.; JOO, H.S. Identification of novel *Helicobacter* species in pig stomachs by PCR and partial sequencing. *J. Clin. Microbiol.*, v. 39, n. 9, p. 3311-3315, 2001.
- COHEN, M.C.; RUA, E.C.; BALCARCE, N.; DRUT, R. Sulfomucins in *Helicobacter pylori*-associated chronic gastritis in children: is this incipient intestinal metaplasia? *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, v. 31, n1, p. 63-67, 2000.
- COLE, S.P.; HARWOOD,J.; LEE, R.; SHE, R.; GUINEY, D.G. Characterization of monospecies biofilm formation by *Helicobacter pylori*. *J. Bacteriol.*, v. 186, n. 10, p. 3124-3132, 2003.
- COLIGAN, J.E. et al.. *Current protocols in Immunology*. New York: John Wiley e Sons, 1991.
- COLLIER, D. ST. J. Gastric ulceration: response to an unnatural environment. *Equine Vet. J.*, Suppl. v. 29, p. 5-6, 1999.
- COLLIER, D.S.J.; STONEHAM, S.J. Gastro-esophageal ulcers in man and horse: semblance and dissemblance.

- Equine Vet. J.*, 29 (6) p. 410-412, 1997. Editorial.
- CORDEIRO, F.; FRANÇA, S.T.M.; JUCÁ, N.T. Gastrite. In: CORDEIRO, F.T.M.; MAGALHÃES, A.F.N.; PROLLA, J.S.; QUILICI, F.A. *Endoscopia Digestiva* – Sociedade Brasileira de Endoscopia Digestiva. 3. ed. Rio de Janeiro : MEDSI, 2000. 713 p.
- COUTINHO, A.; KAZATCHKINE, M.D. Immunology invariance and restriction toward a limited set of self-antigens characterize neonatal IgM antibody repertoires and prevail in autoreactive repertoires of healthy adults. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v. 92, p. 3839-3843, 1995.
- CUDD, T.A.; WILSON, J.H. Gastrointestinal system dysfunction: Diagnostic techniques for abdominal problems. In: KOTERBA, A.M.; DRUMMOND, W.H.; KOSCH, P.C. Ed. *Equine Clinical Neonatology*. Philadelphia : Lea e Febiger, 1990. 846 p.
- D'ELIOS, M.M.; AMEDEI, A.; BENAGIANO, M.; AZZURI, A.; DEL PRETE, G. *Helicobacter pylori*, T cells and cytokines: the “dangerous liaisons”. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, v. 44, p. 113-119, 2005.
- D'ELIOS, M.M.; APPELMELK, B.J.; AMEDEI, A.; BERGMAN, M.P.; DEL PRETE, G. Gastric autoimmunity: the role of *Helicobacter pylori* and molecular mimicry. *Trends Molecular Med.*, v. 10, n. 7, p.316-323, 2004.
- DANTZER, R; MORMEDE, P. Stress in farm animals: A need for reevaluation. *J Anim. Sci.*, v. 57, 6-,1983.
- DARWIN, C. *A expressão das emoções no homem e nos animais*. São Paulo: Companhia das Letras, 1872/2000.
- De BLOCK, C.E.M.; De LEEUW, I.H.; van GAAL and the Belgian Diabetes Registry. High prevalence of manifestations of gastric autoimmunity in parietal cell antibody-positive type 1 (insulin-dependent) diabetic patients. *J. Clin. Endocrinol. Metabol.*, v. 84, n. 11, p. 4062-4067, 1999.
- DEARO, A.C.O.; LOPES, M.A.F.; GANDOLFI, W. Prevalence of gastric lesions (ulcers and/or erosions) and their relationship to stressful factors in asymptomatic Quarter Horse foals: endoscopic survey. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* V. 35, n. 4, p. 166-169, 1998.
- DEJOURS, C. *O corpo entre a biologia e a psicanálise*. Porto Alegre : Artes Médicas, 1988.
- DiPAOLO, R.J.; GLASS, D.D.; BIJWAARD, K.E.; SHEVACH, E.M. CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> T cells prevent the development of organ-specific autoimmune disease by inhibiting the differentiation of auto reactive effector T cells. *J. of Immunology*, v. 175, p. 7135-7142, 2005.
- DIXON, M.F.; GENTA, R.M.; YARDLEY, J.H.; CORREA, P. et al.. Classification and grading of gastritis: The updated Sydney system. *Am J. Surg. Pathol.*, v. 20, n. 10, 1996.
- DOWLING, P.M. Therapy of gastrointestinal ulcers. *Can. Vet. J.*, v. 36, p. 276-277, 1995.
- DUNCAN, P. Time budgets of Camargue horses II. Time budgets of adult horses and weaned sub-adults. *Behav.*, v. 72, 26-49, 1980.

- DUNCAN, P.; HARVEY, P.H.; WELLS, S.M. On lactation and associated behaviour in a natural herd of horses. *Anim. Behav.*, v. 32, p. 255-263, 1984.
- EATON, K.; DEWHIRST, F.E.; RADIN, M.J.; FOX, J.G.; PASTER, B.J.; KRAKOWKA, S.; MORGAN, D.R. *Helicobacter acinonyx* sp. nov, isolated from Cheetahs with gastritis. *Intern. J. Systematic Bacteriology*, v.43, n. 1, p. 99-106, 1993.
- EISIG, J.N.; SILVA, E.P.; ZATERKA, S. Úlcera péptica. In: CORDEIRO, F.T.M.; MAGALHÃES, A.F.N.; PROLLA, J.S.; QUILICI, F.A. *Endoscopia Digestiva*. Sociedade Brasileira de Endoscopia Digestiva. 3. ed. Rio de Janeiro : MEDSI, 2000. 713 p.
- EL-ZIMAITY, H.M.T.; AL-ASSI, M.T.; GENTA, R.M.; GRAHAM, D.Y. Confirmation of successful therapy of *Helicobacter pylori* infection: number and site of biopsies or a rapid urease test. *Am J Gastroenterol*, v. 90, n. 11, p. 1962-1964, 1995.
- ELZINGA, B.M.; BREMER, J.D. Are the neural substrates of memory the final common pathway in posttraumatic stress disorder (PTSD)? *J. Affective Disorders*, v. 70, p. 1-17, 2002.
- FARIA, E. *Dicionário escolar latino-portugues*. 3. ed. Rio de Janeiro : MEC, 1962.
- FERREIRA NETO, J.M.; VIANA, E.S.; MAGALHÃES, L.M. *Patologia Clínica Veterinária*. Belo Horizonte : Rabelo Brasil, 1977. 279p.
- FISKE, R.A. Foal gastroduodenal ulcer disease. *The Southwestern Vetern.*, v. 37, n.3, p.208-209, 1986.
- FLANNERY, R.B. Psychological Trauma and Posttraumatic stress disorder: a review. *Int. J. Emergency Mental Health*, v.2, p. 135-140, 1999.
- FONTINHA, R. *Novo dicionário etimológico da língua portuguesa*. Porto : Domingos Barreira, 1957. 1198 p.
- FOX, J.G.; BATCHELDER, M.; MARINI, R.; YAN, L.; HANDT, L.; LI, X.; SHAMES, B.; HAYWARD, A.; CAMPBELL, J.; MURPHY, J.C. *H. pylori* induced gastritis in domestic cat. *Infect. Immun.*, v. 63, n.7, p. 2674-2681, 1995.
- FOX, J.G.; EDRISE, B.M.; CABOT, E.B.; BEAUCAGE, C.; MURPHY, J.C.; PROSTAK, K.S. *Campylobacter*-like organisms isolated from gastric mucosa of ferrets. *Am. J. of Vet. Research*, v. 47, p. 236-239, 1986.
- FRANIC, T.V.; JUDD, L.M.; NGUYEN, N.V.; SAMUELSON, L.C.; LOVELAND, K.L.; GIRAUD, A.S.; GLEESON, P.A.; van DRIEL, I.R. Growth factors associated with gastric mucosal hypertrophy in autoimmune gastritis. *Amer. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* V. 287, n. 1, p. G910-G918, 2004.
- FRASER, D.; RITCHIE, J.S.D.; FRASER, A.F. The term "stress" in a veterinary context. *Br. Vet. J.*, v. 131, p. 653-662, 1975.
- FRIIS-HANSEN, L.; SUNDLER, F.; LI, Y.; GILLESPIE, P.J.; SAUNDERS, T.L.; GREENSON, J.K.; OWYANG, C.; REHFELD, J.F.; SAMUELSON, L.C. Impaired gastric acid secretion in gastrin-deficient mice. *Amer. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* v. 274, n. 1, p. G561-G568, 1998.

- FURR, M.; TAYLOR, L.; KRONFELD, D. The effects of exercise training on serum gastric responses in the horse. *Cornell Vet.*, v. 84, p. 41-45, 1994.
- FURR, M.O.; MURRAY, M.J.; FERGUSON, D.C. The effect of stress on gastric ulceration, T3, T4, reverse T3 and cortisol in neonatal foals. *Equine Vet. J.*, v. 24, n. 1, p. 37-40, 1992.
- FURR, M.O., MURRAY, M.J. The effect of stress on gastric ulceration and serum T3, T4, and cortisol in neonatal foals. *AAEP Proceedings*, v. 35, p. 517, 1990.
- GEOR, R.J. e PAPICH, M.G. Medical therapy for gastrointestinal ulceration in foals. *The Compendium*, v. 12, n.3, p. 403-412, 1990.
- GRAEFF, F.G. Bases biológicas do transtorno de estresse pós-traumático. *Rev. Bras. Psiquiatr.* v. 25 (Supl. I), p. 21-24, 2003.
- GRAHAM, D.Y. MALATY, H.M., G.O, M.F. Are there susceptible hosts to *Helicobacter pylori* infection? *J Gastroenterol*, v. 29, Suppl 205, p. 6-10, 1994.
- GREEN, E.M.; SPROUSE, R.F.; JONES, B.D.; BARTHEL, J.S. Transendoscopic gastric mucosal biopsy: rapid urease test and bacteriologic culture for identification of *Helicobacter pylori* in asymptomatic foals. In: *Proceedings Second International Conference on veterinary Perinatology*. Eds.: P.D. Rossdale; .C. Beardsmore; R.J. Rose; A. Koterba; P. Kosch; J. Wade; R e W Publications Limited, Newmarket, UK, p. 60, 1990.
- GRIFFIN, AS; LAWRENCE, LM; LEW, JP; WOOD, CH; BREWSTER-BARNES, T.. Effects of yeast culture supplementation on growth of Thoroughbred foals at weaning (abstract). *J Am Sci* 73 (S1), 176, 1996.
- GROTTI, M.; RIVARO, P.; LEARDI, R.; MAGI, E. Three-way principal component analysis as a powerful tool to process marine environmental data sets. *Annali Di Chimica*, v. 89, p. 591-600, 1999.
- GUARISO, G.; BROTTTO, F.; BASSO, D.; ALAGGIO, R.; BETTERLE, C. Organ-specific autoantibodies in children with *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter*, v. 9, n. 6, 0, 622-628, 2004.
- HAMMOND, C.J., MASON, D.K., WATKIN, K.L. Gastric ulceration in mature Thoroughbred horses. *Equine Vet. J.*, v. 18, n. 4, p.284-287, 1986.
- HANDT, L.K.; FOX, J.G.; DEWHURST, F.E.; FRASER, G.J.; PASTER, B.J.; YAN, L.L.; ROZMIAREK, H.; RUFO, R.; STALIS, I.H. *Helicobacter pylori* isolated from the domestic cat: public health implications. *Infect. Immun.*, v. 62, p. 2367-2374, 1994.
- HARTMANN, A.M. e FRANKENY, R.L. A preliminary investigation into the association between competition and gastric ulcer formation in non-racing performance horses. *J. Equine Vet Sci.*, v. 23, n.12, 2003.

- HARVEY, J.W. Normal hematologic values. In: KOTERBA, A.M.; DRUMMOND, W.H.; KOSCH, P.C. *Equine Clinical Neonatology*. Philadelphia : Lea & Febiger, 1990. p. 295-316.
- HAURY, M.; GRANDIEN, A.; SUNDBLAD, A.; COUTINHO, A.; NÓBREGA, A. Global analysis of antibody repertoire. I. An immunoblot method for the quantitative screening of a large number of reactivities. *Scand. J. Immunol.*, v. 39, p. 79-87, 1994.
- HAYAT, M.; ARORA, D.S.; WYATT, J.I.; O'MAHONY, S.; DIXON, M.F. The pattern of involvement of the gastric mucosa in lymphocytic gastritis is predictive of the presence of duodenal pathology. *J. Clin. Pathol.*, v. 52, p. 815-819, 1999.
- HAZIROGLU, R., DIKER, K.S., GUVENC, T., KUL, O. Canine gastritis associated with *Helicobacter felis*. *Dtsch Tierärztl Wschr*, v. 102, n. 12, p. 455-494, 1995.
- HECKER, L.S. *Estudo sobre a diversidade e heterogeneidade do repertório de anticorpos*. 1996. 100f. Dissertação de Mestrado - Instituto de Microbiologia. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- HELESKI, C.R.; SHELLE, A.C.; NIELSEN, B.D.; ZANELLA, A.J. Influence of housing on weanling horse behaviour and subsequent welfare. *Appl. Anim. Beh. Sci.*, v. 78, p. 291-302, 2002.
- HEPBURN, R.J. *Investigation into the presence of Helicobacter in the equine stomach by urease testing and polymerase chain reaction and further investigation into the application of the <sup>13</sup>C-urea blood test to the horse*. 2004. 140f. Dissertação (Mestrado em Veterinary Medical Science) – Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University, Leesburg.
- HO, S.A.; HOYLE, J.A.; LEWIS, F.A.; SECKER, A.D.; CROSS, D.; MAPSTONE, N.P.; DIXON, M.F.; WYATT, J.I.; THOMPSON, D.S.; TAYLOR, G.R.; QUIRKE, P. Direct polymerase chain reaction test for detection of *Helicobacter pylori* in humans and animals. *J. Clin. Microbiol.*, v. 29, n. 11, p. 2543-2549, 1991.
- HOFFMAN, R.M.; KRONFELD, D.S.; HOLLAND, J.L.; GREIWE-CRANDELL, K.M. Prewaning diet and stall weaning method influences on stress response in foals. *J. Anim. Sci.*, v. 73, p. 2922-2930, 1995.
- HOLLAND, J.L.; KRONFELD, D.S.; HOFFMAN, R.M.; GREIWE-CRANDELL, K.M.; BOYD, T.L.; COOPER, W.L.; HARRIS, P.A. Weaning stress is affected by nutrition and weaning methods. *Pferdeheilkunde*, v. 12, n. 3, p. 257-260, 1996.
- HOUPPT, K.A. Formation and dissolution of the mare-foal bond. *Appl. Anim. Beh. Sci.*, v. 78, p. 319-328, 2002.
- JAIN, N. C. *Essentials of Veterinary Hematology*. Malvern: Lea & Febiger, 1993. 417p.
- JAKOB, W.; STOLTE, M.; VALENTIN, A.; SCHRÖDER, H.D. Demonstration of *Helicobacter pylori*-like organisms in the gastric mucosa of captive exotic carnivores. *J. Comp. Pathol.*, v. 116, n.1, p. 21-33, 1997.

- JANEWAY, C.A. How the immune system works to protect the host from infection: a personal view. *PNAS*, v. 98, p. 7461-7468, 2001.
- JERNE, N.K. Toward a network theory of the immune system. *Ann. Immunol (Paris)*, v. 125C, p. 373-389, 1974.
- JESUS, I.M. N.. Enfermagem e endoscopia. In: CORDEIRO, F.T.M.; MAGALÃES, A.F.N.; PROLLA, J.S.; QUILICI, F.A. *Endoscopia Digestiva – Sociedade Brasileira de Endoscopia Digestiva*. 3. ed. Rio de Janeiro : MEDSI, 2000. 713 p.
- JIANG, X. e DOYLE, M.P. Growth supplements for *Helicobacter pylori*. *J. of Clin. Microbiol.*, v. 38, n. 5, p. 1984-1987, 2000.
- JOHNSON, B.; CARLSON, G.P.; VATISTAS, N.; SNYDER, J.R.; LLOYD, K.; KOOBS, J. Investigation of the number and location of gastric ulcerations in horses in race training submitted to the California racehorses postmortem program. *AAEP Proceedings*, v. 40, p. 123-124, 1994.
- JUBB, K.V.; KENNEDY, P.C.; PALMER, N. *Pathology of domestic animals*. 4 ed. V.2. San Diego: Academic Press, 1995.
- JUDD, L.M.; GLEESON, P.A.; TOH, B-H.; van DRIEL, I.R. Autoimmune gastritis results in disruption of gastric epithelial cell development. *Amer. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* V. 277, n. 1, p. G209-G218, 1999.
- KANEKO, T.; OTA, H.; HAYAMA, M.; AKAMATSU, T.; KATSUYAMA, T. *Helicobacter pylori* infection produces expression of a secretory component in gastric mucous cells. *Virchows Arch.* V. 437, n. 5, p. 514-520, 2000.
- KÄNNEL; R.; HEPP, U.; KRAEMER, B.; TRABER, R.; KEEL, M.; MICA, L.; SCHNYDER, U. Evidence for low-grade systemic proinflammatory activity in patients with posttraumatic stress disorder. *J. Psy. Res.*, 2006 (doi:10.1016/j.psychires.2006.06.009).
- KATO, S.; SHERMAN, P.M. What is new related to *Helicobacter pylori* infection in children and teenagers? *Arch. Pediatr. Adolesc. Med.*, v. 159, p. 415-421, 2005.
- KAZATCHKINE, M.D.; KAVERI, S.V. Immunomodulation of autoimmune and inflammatory diseases with intravenous immune globulin. *The New England J. Med.* v. 345, p. 747-755, 2001.
- KILEY-WORTHINGTON, M. *The behaviour of horses*. In relation to management and training. London : J.A. Allen & Company Limited, 1987.
- KING, J.M. Duodenal ulceration with stenosis and smooth-muscle hypertrophy in a foal. *Vet. Med.*, v. 91, n.6, p. 520, 1996.
- KITCHEN, D.L.; BURROW, J.A.; HEARTLESS, C.S.; MERRIT, A.M. Effect of pyloric blockade and infusion of histamine or pentagastrin on gastric secretion in horses. *AJVR*, v.61, n. 9, p. 1133-1139, 2000.
- KITCHEN, D.L.; MERRITT, A.M.; BURROW, M.S. Histamine-induced gastric acid secretion in horses. *AJVR*, v. 59, n.10, p. 1303-1306, 1998.
- KNOWLES, D.P. Babesiosis. In: ROBINSON, N.E. *Current therapy in*

- equine medicine*. 3. ed. Philadelphia : Saunders, 1992.
- LAGOW, E.; DeSOUZA, M.; CARSON, D.D. Mammalian reproductive tract mucins. *Human Reprod. Update*, v. 5, n.4, p. 280-293, 1999.
- LAMAR, A.M. Standard fiber optic equipment and its care. In: TRAUB-DARGATZ, J.L. e BROWN, C.M. *Equine Endoscopy*. St. Louis : Mosby, 1990. 192 p.
- LANG, J.; BLIKSLAGER, A.; REGINA, D.; EISEMAN, J.; ARGENZIO, R. Synergistic effect of hydrochloric acid and bile acids on the pars esophageal mucosa of the porcine stomach. *Am. J. Vet. Res.* v. 59, n. 9, p. 1170-1176, 1998.
- LEITÃO, O.R.; SOARES, L.F.P. Úlcera péptica gástrica. In: CORDEIRO, F.T.M.; MAGALÃES, A.F.N.; PROLLA, J.S.; QUILICI, F.A. *Endoscopia Digestiva – Sociedade Brasileira de Endoscopia Digestiva*. 3. ed. Rio de Janeiro : MEDSI, 2000. 713 p.
- LEONHARDT, T. Psychosomatic disease or infection? Peptic ulcer in the light of the history of ideas and of the philosophy of science. *Sven. Med. Tidskr.*, v.3, n.1, p. 133-161, 1999.
- LERNER, M.D. The many faces of traumatic stress. *The American Academy of Experts in Traumatic Stress*, 1996. Disponível em: <http://www.aaets.org/index.htm>. Acesso em: 09 de abril 2006.
- LEWIS, A. Gastric ulceration in an equine neonate. *Can. Vet. J.* v. 44, p. 420-421, 2003.
- LEWIS, L.D. Alimentação e cuidados do equino em crescimento. In: \_\_\_\_\_. *Nutrição clínica equina*. Alimentação e cuidados. São Paulo : Roca, 2000. p. 417-437.
- LI, S.N.; STUZENBERGER, F.J. The housefly (*Musca domestica*) as a possible vector for *Helicobacter pylori* at agricultural sites. *Intern. J. Enviromental Health Res.*, v. 10, n. 2, p. 141-152, 2000.
- LIM, L.L.; HO, K.Y.; HO, B.; SALTO-TELLEZ, M. Effect of biopsies on sensitivity and specificity of ultra-rapid urease test for detection of *Helicobacter pylori* infection: a prospective evaluation. *World J. Gastroenterol.*, v. 10, n. 13, p.1907-1910, 2004.
- LINZEY, A. Reverence, responsibility and rights. In: PATERSON, D. PALMER, M. *The status of animals*. Wallingford : CAB International, 1991. 257 p.
- LLOYD, K. Ontogeny of gastric function vs the “stress syndrome”. *Equine Vet. J.*, v.25, n.3, p.179, 1993.
- LOURENÇO, O. e KAHN, P. Raciocínio ecológico-moral: um estudo desenvolvimentista numa amostra de sujeitos de Lisboa. *Aná. Psicológica*, vl.18, no.4, p.425-435. 2000. ISSN 0870-8231.
- LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, N.J. FARR, A.L.; RANDALL, R.J. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 265, 1951.
- MacALLISTER, C.G. A review of medical treatment for peptic ulcer disease. *Equine Vet. J.*, Suppl. v. 29, p. 45-49, 1999.

- MacALLISTER, C.G. e SANGIAH, S. Effect of ranitidine on healing of experimentally induced gastric ulcers in ponies. *Am. J. Vet. Res.* v. 54, n. 7, p. 1103-1107, 1993.
- MacALLISTER, C.G.; ANDREWS, F.M.; DEEGAN, E.; RUOFF, W.; OLOVSON, S.-G. A scoring system for gastric ulcers in the horse. *Equine Vet. J.*, v. 29, n. 6, p. 430-433, 1997.
- MADIGAN, J.E. Gastroduodenal ulcers. *Ars Veterinaria*, v. 10, n. 2, p. 119-121, 1994.
- MAGALHÃES, A.F.N. e CARVALHAES, A. Técnicas endoscópicas para detecção do *H. pylori*. In: CORDEIRO, F.T.M.; MAGALHÃES, A.F.N.; PROLLA, J.S.; QUILICI, F.A. *Endoscopia Digestiva – Sociedade Brasileira de Endoscopia Digestiva*. 3. ed. Rio de Janeiro : MEDSI, 2000. 713 p.
- MALINOWSKI, K.; HALLQUIST, N.A.; HELYAR, L.; SHERMAN, A.R.; SCANES, C.G. Effect of different separation protocols between mares and foals on plasma cortisol and cell-mediated immune response *Equine Vet. Sci.*, v. 10, n. 5, 1990.
- MALL, A.S.; MERRIFIELD, E.; FOURIE, J.; McLEOD, H.; HICKMAN, R. Alterations in porcine gastric mucin during the development of experimental ulceration. *Digestion*, v. 58, n. 2, p. 138-146, 1997.
- MARCHALONIS, J.J.; KAVERI, S.; LACROIX-DESMAZES, S.; KAZATCHKINE, M.D. Natural recognition repertoire and the evolutionary emergence of the combinatorial immune system. *FASEB*, v. 16, p. 842-848, 2002.
- MARIOTTINI, G.L.; LEARDI, R. Applications of the principal component analysis (PCA) to the ecological study of an artificial environment: the tunny-fishing net of Camogli (Ligurian Sea). *Bol. Soc. Ital. Biol. Sper.* v. 76, n. 3-4, p. 13-20, 2000.
- MARSHALL BJ, WARREN JR, FRANCIS GJ, LANGTON SR, GOODWIN CS, BLINCOW ED. Rapid urease test in the management of *Campylobacter pyloridis*-associated gastritis. *Am J Gastroenterol.*, v. 82, n. 3, p. 200-210, 1987.
- MASON, J.W. A reevaluation of the concept of “non specificity” in stress theory. *J. Psychiat. Res.*, v. 8, p. 323-..., 1971.
- MASUDA, H.; SHICHIJO, S.; TAKEUCHI, M. Comparative studies on the gastric glycopeptide in eleven animal species. *Comp. Biochem. Physiol. B.*, v. 58, n. 2, p. 163-165, 1977.
- McFAYDEN, J., STOCKMAN, S. *Report of the departmental committee appointed by the Board of Agriculture and Fisheries to inquire into epizootic abortions*. London, HMSO, p. 1-29, 1913.
- McGEE, S. e SMITH, H.V. Accompanying pre-weaned Thoroughbred (*Equus caballus*) foals while separated from the mare during covering reduces behavioural signs of distress exhibited. *Appl. Anim. Beh. Sci.*, v. 88, p. 137-147, 2004.

- MÉGRAUD, F. Transmission of *Helicobacter pylori*: faecal-oral versus oral-oral route. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, v. 9, Supl. 2, p. 85-91, 1995.
- MEIRELLES FILHO, J.S.; ANDRÉ, E.A. Gastrites. In: CORDEIRO, F.T.M.; MAGALÃES, A.F.N.; PROLLA, J.S.; QUILICI, F.A. *Endoscopia Digestiva – Sociedade Brasileira de Endoscopia Digestiva*. 3. ed. Rio de Janeiro : MEDSI, 2000. 713 p.
- MELMED, R.N. e GELPIN, Y. Duodenal ulcer: the helicobacterization of a psychosomatic disease? *Isr J Med Sci*, v. 32, n. 3-4, p. 211-216, 1996.
- MENDES, E.N.; QUEIRÓZ, D.M.M.; ROCHA, G.A.; MOURA, S.B.; LEITE, V.H.R.; FONSECA, M.E.F. Ultra structure of a spiral micro-organism from pig gastric mucosa (“Gastrospirillum suis”). *J. Med. Microbiol.*, v.33, n. 1, p. 61-66, 1990.
- MERRIT, A.M. Normal equine gastroduodenal secretion and motility. *Equine Vet. J.*, Suppl. v. 29, p. 7-13, 1999.
- MICHALANY, J. *Técnica histológica em anatomia patológica*. Com instruções para o cirurgião, enfermeiro e citotécnico. São Paulo : E.P.U., 1980.
- MITCHELL, J.; BRAY, G. *Emergency Services Stress*. Englewood Cliffs : Prentice hall, 1990.
- MORLEY, G.P.; CALLAGHAN, J.M.; ROSE, J.B.; TOH, B-H.; GLEESON, P.A.; van DRIEL, I.R. The mouse gastric H,K-ATPase  $\beta$  subunit. Gene structure and co-ordinate expression with the  $\alpha$  subunit during ontogeny. *J. Biol. Chem.*, v. 267, n.2, p. 1165-1174, 1992.
- MORRIS, D.D. Doenças do sistema hemolinfático. In: REED, S.M. e BAYLY, W.M. *Medicina Interna Equina*, Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 2000.
- MOUThON,L; NOBREGA, A.; NICOLAS, N.; KAVERI, S.V.; BARREAU, C.; COUTINHO, A.; KAZATCHKINE, M.D. Invariance and restriction toward a limited set of self-antigens characterize neonatal IgM antibody repertoires and prevail in autoreactive repertoires of healthy adults. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v. 92, p. 3839-3843, 1995.
- MOWRY, R.W. Observation on the use of sulphuric acid for the sulphation of hydroxyl groups in tissue sections. *J. Histochem. Cytochem.*, v. 4, p. 407, 1956.
- MURRAY, M.J. Videoendoscopy. In: TRAUB-DARGATZ, J.L. e BROWN. C.M. *Equine Endoscopy*. St. Louis : Mosby, 1990. 192 p.
- MURRAY, M.J. Diagnosing and treating gastric ulcers in foals and horses. *Vet. Med.*, v. 86, n.8, p. 820-827, 1991a.
- MURRAY, M.J. e GRADY, T.C. The effect of a pectin-lecithin complex on prevention of gastric mucosal lesions induced by feed deprivation in ponies. *Equine Vet J.*, v. 34, n. 2, p. 195-198, 2002.
- MURRAY, M.J. e LUBA, N.K. Plasma gastrin and somatostatin, and serum thyroxine (T4), triiodothyronine (T3), reverse triiodothyronine (rT3) and cortisol concentrations in foals from birth to 28 days of age. *Equine Vet J.*, v. 25, n. 3, p. 237-239, 1993.

- MURRAY, M.J. e MAHAFFEY, E.A. Age-related characteristics of gastric squamous epithelial mucosa in foals. *Equine Vet J.*, v. 25, n. 6, p. 514-517, 1993.
- MURRAY, M.J. Gastric ulceration in horses with colic. *AAEP Proceedings*, v.34, p. 61-68, 1989a.
- MURRAY, M.J. Gastric ulceration in horses: 91 cases (1987-1990). *JAVMA*, v. 201, n. 1, p. 117-120, 1992b.
- MURRAY, M.J. Gastric ulceration in horses: pathologic and therapeutic considerations. *AAEP Proceedings*, v.38, p. 557-569, 1992a.
- MURRAY, M.J. Gastric ulcers in adult horses. *The Compendium*, v. 16, n. 6, p. 792-797, 1994.
- MURRAY, M.J. Gastroduodenal ulceration in foals. *Equine Vet.Education*, v.11, n.4, p. 199-207, 1999a.
- MURRAY, M.J. Overview of equine gastroduodenal ulceration. *AAEP Proceedings*, v. 43, p. 382-387, 1997.
- MURRAY, M.J. Pathophysiology of peptic disorders in foals and horses: a review. *Equine Vet. J.*, Suppl. v. 29, p. 14-18, 1999b.
- MURRAY, M.J. The pathogenesis and prevalence of gastric ulceration in foals and horses. *Vet. Med.*, v. 86, n.8, p. 815-819, 1991b.
- MURRAY, M.J. Ulceração gastroduodenal. In: REED, S.M. e BAYLY, W.M. *Medicina Interna Equina*, Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 2000.
- MURRAY, M.J.; DELUTH, G.A.; SCOTT, D.R. Lymphocytic/plasmacytic antral gastritis in horses. *J. Vet. Intern. Med.*, v. 17, p. 451-452, 2003.
- MURRAY, M.J.; EICHORN, E.S. Effects of intermittent feed deprivation with ranitidine administration, and stall confinement with ad libitum access to hay on gastric ulcerations in horses. *AJVR*, v. 57, n.11, p. 1599-1603, 1996.
- MURRAY, M.J.; GRODINSKY, C.; COWLES, R.; HAWKINS, W.L.; FORFA, R.J.; LUBA, N.K. Endoscopic evaluation of changes in gastric lesions of Thoroughbred foals. *JAVMA*, v. 196, n. 10, p. 1623-1627, 1990a.
- MURRAY, M.J.; GRODINSKY, C.; ANDERSON, C.W.; RADUE, P.F.; SCHMIDT, G.R. Gastric ulcers in horses: a comparison of endoscopic findings in horses with and without clinical signs. *Equine Vet. J.*, v.7. (suppl.), p. 68-72, 1989.
- MURRAY, M.J.; HEPBURN, R.J.; SULLINS, K.E. Preliminary study of use of a polypectomy snare to obtain large samples of the equine gastric antrum by endoscopy. *Equine Vet. J.*, v.36, n.1, p.76-78, 2004.
- MURRAY, M.J.; MURRAY, C.M.; SWEENEY, H.J.; WELD, J.; WINGFIELD DIGBY, N.J.; STONEHAM, S.J. Prevalence of gastric lesions in foals without signs of gastric disease: an endoscopic survey. *Equine Vet. J.* v. 22, n.1, p. 6-8, 1990b.
- MURRAY, M.J.; SCHUSSER, G.F.; PIPERS, F.S.; GROSS, S.J. Factors associated with gastric lesions in Thoroughbred racehorses. *Equine Vet. J.*, v.28, n.5, p.368-374, 1996.
- MURRAY, M.J.; HART, J.; PARKER, G.A. Equine gastric ulcer syndrome:

- endoscopic survey of asymptomatic foals. *AAEP Proceedings*, v. 33, p. 699-776, 1988.
- MURRAY, M.J., Endoscopic appearance of gastric lesions in foals: 94 cases (1987-1988) *JAVMA*, v. 195, n.8, p.1135-1141, 1989b.
- MURRAY, M.J.; BALL, M.M.; PARKER, G.A. Megaesophagus and aspiration pneumonia secondary to gastric ulceration in a foal. *JAVMA*, v. 192, n.3, p.381-383, 1988.
- MURTY, V.L.; PIOTROWSKI, J.; CZAJKOWSKI, A.; SLOMIANY, A.; SLOMIANY, B.L. Inhibition of *Helicobacter pylori* glicosulfatase activity towards human gastric sulfomucin by a gastroprotective agent, sulglytide. *Gen. Pharmacol.*, v.24, n.6, p. 1463-1466, 1993.
- NELSON, D.L.; COX, M.M. *Lehninger Princípios de Bioquímica*. São Paulo: Sarvier, 2002.
- NEWELL, D.G. Campylobacters, Helicobacters and related organisms — disease associations in pigs. *Pig J.*, v. 39, p. 63-73, 1997.
- NICOL, C.J. e DAVIDSON, H.P. et al.. Study of crib-biting and gastric inflammation and ulceration in young horses. *Vet Rec.* v. 151, n. 22, p. 658-662, 2002.
- NICOLESCU, B. *O manifesto da transdisciplinariedade*. São Paulo : Triom, 3. ed, 2005.167 p.
- NOBREGA, A.; GRANDIEN, A.; HAURY, M.; HECKER, L.; MALANCHERE, E.; COUTINHO, A. Functional diversity and clonal frequencies of reactivity in the available antibody repertoire. *Eur. J. Immunol.*, v. 28, n. 4, p 1204-1215, 1998.
- NÓBREGA, A.; HAURY, M.; GRANDIEN, A.; MALANCHÈRE, E.; SUNDBLAD, A.; COUTINHO, A. Global analysis of antibodies repertoire. II. Evidence for specific, self-selection and immunological “homunculus” of antibodies in normal serum. *Eur. J. Immunol.*, v. 23, p. 2851-2859, 1993.
- NUTRIENT requirements of horses. Washington : National Academy Press, 5. ed., 1989. 100p. (National Research Council).
- OCHSENBEIN, A.F.; FEHR, T.; LUTZ, C.; UTER, M.; BROMBACHER, F.; HENGARTNER, H.; ZINKERNAGEL, R.M. Control of early viral and bacterial distribution and diseases by natural antibodies. *Science*, v. 286, n. 5447, p. 2156-2159, 1999.
- OHANA, W.O. e ALMEIDA, A.C. Biópsia e citologia em endoscopia digestiva. In: CORDEIRO, F.T.M.; MAGALÃES, A.F.N.; PROLLA, J.S.; QUILICI, F.A. *Endoscopia Digestiva – Sociedade Brasileira de Endoscopia Digestiva*. 3. ed. Rio de Janeiro : MEDSI, 2000. 713 p.
- OLIVEIRA, C.A.; LIMA JÚNIOR, G.F.; ANDRADE FILHO, J.S., Contribuição da endoscopia ao estudo da doença do refluxo gastroesofágico. In: CORDEIRO, F.; MEIRELLES FILHO, J.S.; PROLA, J.S. *Endoscopia digestiva- Sociedade Brasileira de Endoscopia Digestiva*. Rio de Janeiro : MEDSI, 1994. 516 p.
- OLIVEIRA, M.S. Gerenciamento do estresse do trauma operacional. Aprenda a proteger-se de um mal que afeta muitas pessoas: inclusive você.

- Curso de capacitação de psicólogos em ocorrências de alta complexidade.* Belo Horizonte – CTP/PM, novembro de 2000.
- ORLANDO, R.C.; LACY, E.R.; TOBEY, N.A.; COWART, K. Barriers to paracellular permeability in rabbit esophageal epithelium. *Gastroenterology*, v. 102, p. 910-923, 1992.
- ORSINI, J. Gastric ulceration in the mature horse: a review. *Equine Vet. Educ.*, v.12, n.1, p.24-27, 2000.
- ORTH, U.; WIELAND, E. Anger, hostility and posttraumatic stress disorder in trauma-exposed adults: a meta-analysis. *J. Cons. Clin. Psychol.*, v. 74, n. 4, p. 698-706, 2006.
- PAGAN, J.D. Gastric ulcers in horses: a widespread but manageable disease. *Austral. Equine Vetern.* v. 16, n. 4, p.159,161, 1998.
- PASTER, B.J.; LEE, A.;FOX, J.G.; DEWHURST, F.E.; TORDOFF,L.A.; FRASER, G.J.; O’ROURKE,J.L.; TAYLOR, N.S.; FERRERO,R. Phylogeny of *Helicobacter felis* sp. nov, *Helicobacter mustelae* and related bacteria. *International J System. Bacteriol.*, v. 41, n.1, p. 31-38, 1991.
- PAWLYK, A.C.; JHA, S.K.; BRENNAN, F.X.; MORRISON, A.R.; ROSS, R.J. A rodent model for sleep disturbances in posttraumatic disorder: the role of context after fear conditioning. *Biol. Psychiatry*, v. 57, p. 268-277, 2005.
- PERKINS, N.R. e VASEY, J.R. Gastroduodenal ulcer in a standardbred foal. *Austral. Equine Vetern.*, v. 12, n. 4, p. 164, 168, 1994.
- PETERS, V.; SOTTIAUX, M.; APPELBOOM, J.; KAHN, A. Posttraumatic stress disorder after dog bites in children. *J. Pediatr.* V. 144, p. 121-122, 2004.
- PFEIFFER,-C.-J. A review of spontaneous ulcer disease in domestic animals: chickens, cattle, horses, and swine. *Acta Physiol.Hungar.*, v. 80, n. 1/4, p. 149-158, 1992.
- PRAAG, H.M. van The cognitive paradox in posttraumatic stress disorder: a hypothesis. *Progress Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry*, v. 28,, p. 923-935, 2004.
- PROPHET, E.B.; MILLS, B.; ARRINGTON, J.B.; SOBIN, L.H., *Laboratory Methods in Histotechnology.* Washington : Armed Forces Institute of Pathology, s/d.
- PUGH, DG; WILLIAMS, M A. Feeding foals from birth to weaning. *Comp Cont Ed Pract Vet.*, 14, 526-,1992.
- PYNOOS, R.S.; RITZMANN, R.F.; STEINBERG, A.M.; GOEJIAN, A. PRISECARU, I. A behavioral animal model for posttraumatic stress disorder featuring repeated exposure to situational reminders. *Biol. Psychiatry*, v. 39, p. 129-134, 1996.
- QUEVEDO, J.; FEIER, G.; AFOSTINHO, F.R.; MARTINS, M.R.; ROESLER, R. Consolidação da memória e estresse pós-traumático. *Rev. Bras. Psiquiatr.* v. 25 (Supl. I), p. 25-30, 2003.
- RABUFFO, T.S.; ORSINI, J.A.; SULLIVAN, E.; ENGILES, J.; NORMAN, T.; BOSTON, R. Associations between age and sex and

- prevalence of gastric ulceration in Standardbred racehorses in training. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* v. 221, n.8, p. 1156-1159, 2002.
- RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W. *Clínica Veterinária. Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos.* 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1737p.
- RASSMUNSEN, L.M.; ROBINSON, A.; JOHNSON, G.; JOHNSON, S. A pedagogically sound, innovative, and humane plan for veterinary medical education. In: JUKES, N. e CHIUIA, M. *From Guinea Pig to Computer Mouse: Alternative methods for a progressive, humane education.* 2. ed. InterNICHE, 2003.
- REGAN, T. *Jaulas vazias: encarando o desafio dos direitos animais.* Porto Alegre : Lugano, 2006. 266 p.
- ROBERTSON, J. T. Diseases of the stomach. In: WHITE, N.A. *The equine acute abdomen.* Philadelphia : Lea e Febiger, 1990. 434 p.
- ROCHA, G.A.; QUEIROZ, D.M.M.; MENDES, E.N.; LAGE, A.P.; BARBOSA, A.J.A. Simple carbolfuchsin staining for demonstrating *C. pylori* and other spiral bacteria on gastric mucosa. *J Clin Pathol*, v. 42, p. 1004-1005, 1989.
- SANCHEZ, L.C.; LESTER, G.D.; MERRIT, A.M. Effect of ranitidine on intragastric pH in clinically normal neonatal foals. *JAVMA*, v. 212, n. 9, p. 1407-1412, 1998.
- SANDIN, A.; GIRMA, K.; SJÖHOLM, B.; LINDHOLM, A.; NILSSON, G. Effects of differently composed feeds and physical stress on plasma gastrin concentration in horses. *Acta Vet. Scand.*, v. 39, p. 265-272, 1998.
- SANDIN, A.; SKIDELL, J.; HÄGGSTROM, J.; NILSSON, G. Post mortem findings of gastric ulcers in Swedish horses older than age one year: a retrospective study of 3715 horses (1924-1996). *Equine Vet. J.*, v. 32, n. 1, p. 36-42, 2000.
- SANDØE, P.; CRISP, R. HOLTUNG, N. Ethics. In: Appleby, M.C. & Hughes, B.O. ed. *Animal welfare.* Wallingford: CAB Intl., 1977, 316p.
- SAS Institute, *SAS User's Guide: Statistics* SAS Institute, INC., Cary, North Carolina, 1985.
- SCHREURS, B.G.; SMITH-BELL, C.A. Heart rate changes during conditioning-specific reflex modification of the rabbit's (*Oryctolagus cuniculus*) nictitating membrane response. *J. Neurobiol. Learning Memory*, v. 84, p. 148-158, 2005.
- SCHRÖDER, H.D.; LUDWIG, C.; SCHRÖDER, H.D.; REISCHL, U.; STOLTE, M.; LEHN, N. Chronic gastritis in tigers associated with *Helicobacter acinonyx*. *J. Comp. Path.* v. 119, p. 67-73, 1998.
- SCHWARTZ, K. Über penetrierende Magen-und jejunalgeschwüre. *Beitr. Klin. Chir.*, v. 67, p. 95, 1910.
- SCHWEITZER, A. *Civilization and Ethics.* London : Adam and Charles Black, 1987.
- SCOTT D, MARCUS EA, SHIRAZI-BEECHEY S, et al.. Evidence of *Helicobacter* infection in the horse. GENERAL MEETING OF THE

AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, 2001.

SEJNI, M.; BORRELLI, O.; PUCARELLI, I.; DELLE FAVE, G.; PASQUINO, A.M.; ANNIBALE, B. Early manifestations of gastric autoimmunity in patients with juvenile autoimmune thyroid disease. *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* v. 89, n. 10, p. 4944-4948, 2004.

SEIDEL, K.E.; KAMPSCHULTE, J.; LEHN, N.; BAUER, J. *Helicobacter pylori*: antikörper in Seren von Schweinen und Kälbern. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* v. 109, p. 11-12, 434, 439, 1996.

SELYE, H. A syndrome produced by diverse nocuous agents. *Nature*, p. 32, 1936.

SEVI, A.; CAROPRESE, M.; ANNICHIARICO, G.; ALBENZIO, M.; TAIBI, L.; MUSCIO, A. The effect of a gradual separation from the mother on later behavioural, immune and endocrine alterations in artificially reared lambs. *Appl. Anim. Beh. Sci.*, v. 83, p. 41-53, 2003.

SHAH, M.; SHRIKHANDE, S.S. Mucin histochemistry of the upper gastrointestinal tract. *Indian J. Gastroenterol.*, v. 8, n. 2, p. 83-84, 1989.

SHERMAN, P.M., Peptic ulcer disease in children. Diagnosis, treatment and implication of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterol. Clinics North Am*, v. 23, n.4, 1994.

SILVA, E. ; TEIXEIRA, A.; DAVID, L.; CARNEIRO, F.; REIS, C.A.; SOBRINHO-SIMÕES, J.; SERPA, J.; VEERMAN, E.; BOLSCHER, J. SOBRINHO-SIMÕES, M. Mucins as

key molecules for the classification of intestinal metaplasia of the stomach. *Virchow Arch.*, v. 440, n.3, p. 311-317, 2002.

SILVA-NETO, A.F. *Desenvolvimento ontogenético do repertório de anticorpos no modelo equino*. 2000. 68f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Imunologia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

SILVA-NETO, A.F. *Identificação de padrões de reatividade nas populações de IgG e IgM em diferentes espécies em condições fisiológicas e patológicas*. 2005. 128f. Tese (doutorado em Bioquímica e Imunologia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

SINGER, P. *Libertação animal*. Porto Alegre : Lugano, 2004. 357 p.

SMYTH, G.B., YOUNG, D.W., SCHUMACHER, J. Postprandial serum gastrin concentration in normal foals. *Equine Vet J*, v. 21, n. 4, p. 285-287, 1989.

SOBHANI, I., VALLOT, T., MIGNON, M. *Helicobacter pylori*, une bactérie redécouverte. Son implication dans les maladies gastro-duodénales. *Presse Medicale*, v. 24, n. 2, p. 67-79, 1995

SOLDATOS, C.R.; PAPARRIGOPOULOS, T.J.; PAPPAS, D.A.; CHRISTODOULOS, G.N. Early post-traumatic stress disorder in relation to acute stress reaction: an ICD-10 study among help seekers following an earthquake. *Psychiatry Res.*, v.xx, p. xxx-xxx, 2006 (no prelo).

SORG, B.A.; SWINDELL, S.; TSCHIRGI, M.L. Repeated low level

- formaldehyde exposure produces enhanced fear conditioning to odor in male, but not female, rats. *Brain Res.*, v. 1008, p. 11-19, 2004.
- SPICER, S.S.; KATSUYAMA, T.; SANNES, P.L. Ultrastructural carbohydrate cytochemistry of gastric epithelium. *Histochem. J.*, v. 10, n. 3, p. 309-331, 1978.
- SPICER, S.S.; LEPPI, T.J.; STOWARD, P.J. Suggestion for a histochemical terminology of carbohydrate-rich tissue components. *J. Histochem. Cytochem.*, v. 13, n. 7, p. 599-603, 1965.
- STARKMANN, M. The terrorist attacks of September 11, 2001, as psychological toxin: increase in suicidal attempts. *J. Nervous Mental Dis.*, v. 194, n. 7, p. 547-550, 2006.
- STAUFFER, A.; LALLEMAND, A.; GAILLARD, D. Mucin histochemistry of the digestive tract in the human fetus. *Gastroenterol. Clin. Biol.*, v. 14, n. 6-7, p. 561-566, 1990.
- STRAUSS-AYALI, D.; SCANZIANI, E.; DENG, D.; SIMPSON, K.W. *Helicobacter spp.* infection in cats: evaluation of the humoral immune response and prevalence of gastric *Helicobacter spp.* *Vet. Microbiol.* v. 79, n.3, p. 253-265, 2001.
- TAYLOR, C.; ALLEN, A.; DETTMAR, P.W.; PEARSON, J.P. The gel matrix of gastric mucus is maintained by a complex interplay of transient and non transient associations. *Biomacromolecules*, v. 4, n. 4, p. 922-927, 2003.
- TERLOUW, E.M.C.; SCHOUTEN, W.G.P.; LADEWIG, J. Physiology. In: APPLEBY, M.C e HUGHES, B.O. Ed. *Animal welfare*. Wallingford : CAB Int., 1997.
- THIENKRUA, W.; CARDOZO, B.L.; SOMCHAI, C.; GUADAMUZ, T.E.; PENGJUNTR, W.; TANTIPIWATANASKUL, P.; SAKORNSATIAN, S.; EKASSAWIN, S.; PANYONG, B.; VARANGRAT, A.; TAPPERO, J.; SCHREIBER, M; van GRIENSVEN, F. Symptoms of posttraumatic stress disorder and depression among children in tsunami-affected areas in southern Thailand. *JAMA*, v. 296, n. 5, p. 549-559, 2006.
- TOLENTINO, M.M.; FAIFER, J.G. Úlceras pépticas duodenais. In: CORDEIRO, F.; MEIRELLES FILHO, J.S.; PROLA, J.S. *Endoscopia digestiva*- Sociedade Brasileira de Endoscopia Digestiva. Rio de Janeiro : MEDSI, 1994. 516 p.
- TRAUB-DARGATZ, J.L. Non steroidal anti-inflammatory drug-induced ulcers. *AAEP Proceedings*, v.33, p. 129-132, 1988.
- TRAUB-DARGATZ, J.L.; BAYLY, W.; RIGGS, M.; THOMAS, N.; PANKOWSKI, R. Exanguination due to gastric ulceration in a foal. *JAVMA*, v. 186, n. 3, p. 280-281, 1985.
- TRAUB-DARGATZ, J.L.; BERTONE, J.J.; GOULD, D.H.; WRIGLEY, R.H.; WEISSER, M.G.; FORNEY, S.D. Chronic flunixin meglumine therapy in foals. *Am. J. Vet. Res.*, v. 49, n.1, p. 7-12, 1988.
- TURNER, J.L.; ARNS, M. J.; MINTON, J.E.; PRUITT, J.A. Effects of Abrupt vs Gradual Weaning on Cortisol and Immune Function Responses of Foals. *Professional*

*Animal Scientist*, v. 19, n.1, p. 55-61, 2003.

Van der KOLK, B. The body keeps the score: memory and the evolving psychobiology of post traumatic stress. *Trauma Information Pages*. 1994. Disponível em <<http://www.trauma-pages.com>>. Acesso em: 09 de abril 2006.

Van DRIEL, I.R.; READ, S.; ZWAR, T.; GLEESON, P.A. Shaping the T cell repertoire to a *bona fide* autoantigen: lessons from autoimmune gastritis. *Current Opinion in Immunol.*, v. 17, p. 570-576, 2005.

VARIS O., LAXÉN, F., VALLE, J. *Helicobacter pylori* infection and fasting serum gastrin levels in a series of endoscopically diagnosed polyps. *APMIS*, v. 102, p. 759-764, 1994.

VATISTAS, N.; SNYDER, J.R.; CARLSON, G.P.; JOHNSON, B.; ARTHUR, R.M.; THURMOND, M.; LLOYD, K. Epidemiological study of gastric ulceration in the Thoroughbred race horse: 202 horses 1992-1993. *AAEP Proceedings*, v. 40, p. 125-126, 1994.

VATISTAS, N.J.; SIFFERMAN, R.L.; HOLSTE, J.; COX, J.L.; PINALTO, G.; SCHULTZ, K.T. Induction and maintenance of gastric ulceration in horses in simulated race training. *Equine Vet. J.*, Suppl. v. 29, p. 40-44, 1999a.

VATISTAS, N.J.; SNYDER, J.R. Clinical trial of the use of omeprazol in healing of gastric ulcers in horses maintained in active race training. *AAEP Proceedings*, v. 43, p. 388-389, 1997.

VATISTAS, N.J.; SNYDER, J.R.; CARLSON, G.; JOHNSON, B.; ARTHUR, R.M.; THURMOND, M.; ZHOU, H.; LLOYD, K.L.K. Cross-sectional study of gastric ulcers of the squamous mucosa in Thoroughbred racehorses. *Equine Vet. J.*, Suppl. v. 29, p. 34-39, 1999b.

VAZ, N.M.; FESEL, C.; NOBREGA, A.; SILVA-NETO, A.F. Severity of schistosomiasis mansoni in male CBA mice is related to IgG profiles with mouse liver extracts in Panama-blot. In: XVI REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL, 2001, CAXAMBÚ. Reunião Anual da Federação da Sociedade Brasileira de Biologia Experimental. 2001. v.1, p. 136-136.

WARREN, J.R. e MARSHALL, B.J. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet*, v. 1, p. 1311-1315, 1984.

WARREN, J.R. e MARSHALL, B.J. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet*, i, p. 1273-1275, 1983.

WATSON, S.J. e AKIL, H. Gene chips and arrays revealed: a primer on their power and their uses. *Biol Psychiatry*. V. 45, n. 5, p. 533-543, 1999.

WHITE, N.A. Examination and diagnosis of the acute abdomen. In: \_\_\_\_\_. *The equine acute abdomen*. Philadelphia : Lea e Febiger, 1990. 434 p.

WILSON, E. . *Biophilia*. Cambridge, MA: Harvard University Press, 1984.

WILSON, J.H.; PEARSON, M.M. Serum pepsinogen levels in foals with

gastric or duodenal ulcers. *AAEP Proceedings*, v. 31, p. 149-150, 1986.

WÜRBEL,H.; STAUFFACHER, M. Age and weight at weaning affect corticosterone level and development of stereotypies in ICR-mice. *Anim. Behav.*, v. 53, p. 891-900, 1997.

YOUSEF, M.K. *Stress physiology in livestock*. V. 1. Basic principles. Boca Raton : CRC, 1985.

YOUSFI, M.M.; EL-ZIMAITY, H.M.; COLE, R.A.; GENTA, R.M.; GRAHAM, D.Y. Comparison of agar gel (CLOtest) or reagent strip (PyloriTek) rapid urease tests for detection of *Helicobacter pylori* infection. *Am J Gastroenterol.*, v.92, n. 11, p.2136, 1997.

ZIEBELL, K.-L.; STEINMANN, H.; KRETZDORN, D.; SCHLAPP, T.; FAILING, K.; SCHMEER, N. The use of Baypamun N in crowding associated infectious respiratory disease: efficacy of Baypamun N (freeze dried product) in 4-10 month old horses. *J. Vet. Med. B.*, v.44, p. 529-536, 1977.

## **7 ANEXOS**



## 7.1 REAGENTES E SOLUÇÕES

### UTILIZADOS NO WESTERNBLOT:

#### 7.1.1 Eletroforese

##### 7.1.1.1 Soluções Estoque

###### 7.1.1.1.1 Tris/HCl 1,5 Molar pH: 8,8

- Tris 90,855 g
- Adicionar 200 ml de água Milli-Q.
- Ajustar o pH com ácido clorídrico fumegante.
- Completar para 500 ml com água Milli-Q.

###### 7.1.1.1.2 Tris/HCl 0,5 Molar pH: 6,8

- Tris 30,28 g.
- Adicionar 200 ml de água Milli-Q.
- Ajustar o pH com ácido clorídrico fumegante até 6,8.
- Completar para 500 ml.

###### 7.1.1.1.3 SDS 10%

- SDS 50 g
- Completar para um litro com água Milli-Q

###### 7.1.1.1.4 Tampão de Corrida (5X)

- Tris base 15g.
- Glicina 72g
- SDS 05g
- Completar para um litro com água Milli-Q.

##### 7.1.1.2 Géis de Corrida (7,5% de acrilamida)

- Acrilamida/Bis (37.5:1) 5 ml.
- Tris-HCl pH 8,8/1,5 M 5 ml.
- SDS 10 % 200 µl.
- Água Milli-Q 9,6 ml.
- Persulfato de Amônio 200 µl.
- Temed 8 µl.

##### 7.1.1.3 Géis de Empilhamento (3,75% de acrilamida)

- Acrilamida/Bis (37.5:1) 1,25 ml.
- Tris-HCl pH 8,8/1,5 M 2,5 ml.
- SDS 10 % 100 µl.
- Água Milli-Q 6,15 ml.
- Persulfato de Amônio 75 µl.
- Temed 8 µl.

## 7.1.2 Eletrotransferência

### 7.1.2.1 Tampão 1.

- Tris 1 M 150 ml.
- Etanol 100 ml.
- Água 250 ml.

### 7.1.2.2 Tampão 2.

- Tris 1 M 12,5 ml.
- Etanol 100 ml.
- Água 387,5 ml.

### 7.1.2.3 Tampão 3.

- Tris 1 M 12,5 ml.
- Etanol 100 ml.
- Água 387,5 ml.
- Ácido 6-amino-n-hexanoico 2,62 g

## 7.1.3 Bloqueio, Lavagem e Diluição dos Soros

### 7.1.3.1 PBS Tween 0,2 %

- 100 ml de PBS 10 X
- 20 ml de Tween 10 %
- Diluir até um litro com água bidestilada.

### 7.1.3.2 Tampão fosfatase alcalina

- Tris 2,42 g
- Diluir em 900 ml de água Milli-Q
- Ajustar o pH para 9,5
- NaCl 5,84 g
- MgCl<sub>2</sub>. 6H<sub>2</sub>O 1 g

### 7.1.3.3. Solução de revelação

- NBT 66 µl
- BCIP 33 µl
- 10 ml de T.F.A

## 7.2 COLORAÇÕES

### 7.2.1 COLORAÇÃO POR CARBOLFUCSINA

- Lavar as secções desparafinadas.
- Corar por cinco minutos em solução de carbolfucsina preparada  
4g de fucsina básica,  
4g de cristais de fenol,  
4ml de álcool absoluto e  
100ml de água destilada.
- Enxaguar em água as secções.
- Descorar rapidamente com acetona.
- Não há necessidade de montar lamínula.

### 7.2.2 COLORAÇÃO DE WARTHIN - STARRY

- Preparar e aquecer as soluções em banho-maria a 56°C.
- Lavara as secções em água (3 testes + 3 controle).
- Colocar em solução de prata 1% a 56°C por 1 hora (Coplin jar).
- Adicionar 2.5ml de prata 2% à solução de gelatina.
- Enxaguara as lâminas e deixar no Coplin jar.
- Adicionar 3ml de hidroquinol à solução de gelatina/prata e despejar sobre as lâminas no Coplin jar.
- Remover 1 lâmina de teste 1 controle slide a intervalos, para julgar o desenvolvimento pelo olho. (Geralmente, com 1-3 minutos, as secções devem estar marrom claro-amareladas).
- Lavar cuidadosamente. Elas estão QUENTES !!

- Fixar em solução de hipossulfito de sódio a 5% por 5 minutos.

- Desidratar, diafanizar e montar as lamínulas.

### RESULTADO

- Espiroquetas + e alguns bacilos em negro.
- Fundo em amarelo.

---

### SOLUÇÕES:

- Tampão: 0.2m Acetato de sódio 1,5ml
- 0.2m Ácido acético 18,5ml
- Água destilada 480ml
- pH 3.7 guardar a 4°C
- 1% Nitrato de prata em tampão 50ml
- 2% Nitrato de prata em tampão 10ml
- Solução de Gelatina 3g em 45ml tampão
- Hidroquinina (Quinol) 0,3g in 7ml tampão

---

### OBSERVAÇÃO:

- A coloração de Warthin - Starry esvanece em torno de 10 a 14 dias. Uma fixação para esta coloração, com solução de hipossulfito de sódio a 5% foi proposta pelo Sr. Rubens Miranda, técnico em histologia, com resultado muito eficiente.

### 7.2.3 COLORAÇÃO DE ALCIAN BLUE

#### SOLUÇÕES

- Alcian Blue pH 2.5
    - Alcian Blue 1g
    - Ácido acético a 3% 100ml
  - 0.1% vermelho nuclear
    - Vermelho Nuclear rápido 0,1g
    - Sulfato de alumínio 2,5g
    - Água destilada 100ml
- 

#### MÉTODO

- Lavara as secções em água.
- Corar na solução de alcian blue pH 2.5 por 5 minutos.
- Lavar com bastante água.
- Contracorar em 0.1% nuclear fast red por 5 minutos.
- Lavar em água.
- Desidratar, secar e montar lamínula.

#### RESULTADOS

- Mucinas – em azul celeste
  - Núcleos – em vermelho
- 

#### OBSEVAÇÃO

- Neste pH são identificadas as mucinas sulfatadas fracas.

### 7.2.4 COLORAÇÃO PELO PERIODIC

#### ACID-SCHIFF

- Lavara as secções em água.
- Tratar com o ácido periódico 1% por 10 minutos.
- Lavar em água.
- Tratar com reagente de Schiff por 10 minutos.
- Lavar bem em água corrente.
- Corar os núcleos com hematoxilina de Carazzi por 2 minutos. Diferenciar em álcool ácido.
- Azular em água corrente de Scott.
- Desidratar, secar e montar lamínula.

N.B. Não corar em demasia no reagente de Schiff, pois é irreversível.

---

#### RESULTADO

- Glicogênio e outros reativos periodatos em magenta
  - Núcleos em azul
- 

#### SOLUÇÕES

- Reagente de Schiff
  - Ferver 200ml de água destilada, remover o frasco do Bunsen e adicionar 1g de fuccina básica.
  - Esfriar até 50°C.
  - Adicionar 2g de matabissulfato de potássio enquanto mistura.
  -

- Esfriar em temperatura ambiente e adicionar 2ml de ácido hidrolórico concentrado e deixar repousar no escuro, à noite.
- Adicionar uma grande quantidade de carvão ativado, agitar bem e filtrar. A solução deve ficar clara ou amarelo pálido.
- Armazenar a 4°C

### 7.2.5 COLORAÇÃO PELA

#### HEMATOXILINA E EOSINA

##### METODO

- Lavara as secções em água.
- Corar em hematoxilina por 5 minutos.
- Lavar em água corrente.
- Deixar azular em carbonato de lítio ou água de Scott.
- Lavar em água corrente.
- Colocar em álcool ácido a 1% por alguns segundos.
- Lavar em água corrente.
- Corar em eosina por 5 minutos.
- Lavar em água corrente.
- Desidratar, diafanizar e montar lamínula.

##### RESULTADOS

- Núcleos em azul escuro. Citoplasma em diversas tonalidades de rosa.
- Fibras musculares em rosa escuro-avermelhado.
- Fibrinas em rosa escuro.
- Hemácias em laranja ou vermelho.

##### SOLUÇÕES

###### (1) Hematoxilina de Gills

- Hematoxilina 6,0g
- Sulfato de alumínio 4,2g
- Ácido Cítrico 1,4g
- Iodato de sódio 0,6g
- Etileno Glicol 269ml
- Água destilada 680ml

###### (2) Eosina

- Eosina amarela 1,0g
- Água destilada 100ml

###### (3) Carbonato de lítio 1%

- Água destilada 100g

###### (4) Álcool ácido 1%

- Álcool 70% 1 99ml
- Ácido hidrolórico concentrado 1ml

###### (5) Água de Scott

- Em um béquer com 1L Água destilada, adicionar 20g de bicarbonato de sódio e 3.5g de sulfato de magnésio. Misturas cuidadosamente para dissolver os sais. Filtrar para um frasco de vidro rotulado, com filtro de papel.

#### **7.2.6 COLORAÇÃO PELO MÉTODO DE GIEMSA PARA *HELICOBACTER PYLORI***

- Lavar em água.
- Diluir Giemsa 1:20 em água deslitada e adicionar 2 gotas de ácido acético concentrado. Corar por 30 minutos
- Lavar em água.
- Desidratar, diafanizar e montar lamínula.

#### **RESULTADOS**

- *Helicobacter* em azul acinzentado
- Fundo em rosa /azul pálidos.
- Núcleos em azul.

#### **CONTROLE**

- Essencial, com controle positivo para *Helicobacter*.

#### **7.2.7 COLORAÇÃO PELO PAS-AB (PH 2,5)**

#### **MÉTODO**

- Lavara as secções em água.
- Corar pelo Alcian Blue pH 2.5 por 5 minutos.
- Lavar com bastante água, durante 10 minutos.
- Lavar em água destilada.
- Colocar ácido periódico a 1% sobre a lâmina durante 2 minutos.
- Lavar em água destilada.
- Corar pelo Reativo de Schiff durante 8 minutos.
- Sem lavar, colocar água sulfurosa por 2 minutos.
- Lavar em água corrente durante 10 minutos.
- Desidratar, diafanizar e montar lamínula.

---

#### **RESULTADOS**

- Núcleos em azul claro.
- Mucinas ácidas em azul intenso.
- Mucinas neutras em vermelho magenta.

Tabela 18: Média total, mínimo e máximo para valores relativos (%) e absolutos para leucócitos, bastonetes, neutrófilos segmentados, linfócitos atípicos, linfócitos, para potros submetidos ao estresse do desmame

Dia da colheita	Total – Valores absolutos			Total – Valores relativos		
	Média $\pm$ desvio	Mínimo	Máximo	Média $\pm$ desvio	Mínimo	Máximo
<b>Leucócitos (<math>\times 10^3/\mu\text{l}</math>) 7,8-11,6 <math>\times 10^3/\mu\text{l}</math>*</b>						
Dia 1	12,71 $\pm$ 4,25	5,90	24,50	100,00	100,00	100,00
Dia 14	13,12 $\pm$ 2,00	10,30	16,25	100,00	100,00	100,00
Dia 15	13,01 $\pm$ 2,41	8,10	16,90	100,00	100,00	100,00
Dia 17	12,07 $\pm$ 2,65	6,10	17,40	100,00	100,00	100,00
Dia 29	10,61 $\pm$ 1,04	9,10	12,40	100,00	100,00	100,00
<b>Bastonetes (<math>\mu\text{l}</math>) &lt; 150/<math>\mu\text{l}</math>*</b>						
Dia 1	701,00 $\pm$ 653,80	0,00	2450,00	4,95 $\pm$ 2,96	0	10,00
Dia 14	452,44 $\pm$ 236,87	0,00	981,00	3,56 $\pm$ 2,03	0,00	9,00
Dia 15	694,80 $\pm$ 304,88	243,00	1344,00	5,31 $\pm$ 2,08	3,00	10,00
Dia 17	585,53 $\pm$ 325,68	230,00	1278,00	4,88 $\pm$ 2,47	2,00	10,00
Dia 29	379,11 $\pm$ 240,93	0,00	944,00	3,50 $\pm$ 2,14	0,00	8,00
<b>Segmentados (<math>\mu\text{l}</math>) 2890-5560/<math>\mu\text{l}</math>*</b>						
Dia 1	6699,25 $\pm$ 3297,99	2596,00	15190,0	50,80 $\pm$ 7,42	40,00	70,00
Dia 14	6223,69 $\pm$ 1150,20	4326,00	8140,00	47,57 $\pm$ 6,39	39,00	60,00
Dia 15	6505,85 $\pm$ 1618,54	3488,00	9114,00	49,95 $\pm$ 8,13	32,00	62,00
Dia 17	5894,65 $\pm$ 1637,64	2562,00	9222,00	48,47 $\pm$ 6,12	33,00	57,00
Dia 29	5359,21 $\pm$ 840,32	3840,00	6844,00	49,35 $\pm$ 6,20	35,00	58,00
<b>Linfócitos atípicos (<math>\mu\text{l}</math>)</b>						
Dia 1	2,95 $\pm$ 13,19	0,00	59,00	0,05 $\pm$ 0,22	0,00	1,00
Dia 14	27,56 $\pm$ 81,25	0,00	304,00	0,19 $\pm$ 0,54	0,00	2,00
Dia 15	8,20 $\pm$ 36,67	0,00	164,00	0,10 $\pm$ 0,45	0,00	2,00
Dia 17	34,41 $\pm$ 65,18	0,00	183,00	0,35 $\pm$ 0,79	0,00	3,00
Dia 29	30,10 $\pm$ 94,23	0,00	354,00	0,25 $\pm$ 0,79	0,00	3,00
<b>Linfócitos (<math>\mu\text{l}</math>) 3200-6010/<math>\mu\text{l}</math>*</b>						
Dia 1	4382,80 $\pm$ 708,74	2301,00	5635,00	36,65 $\pm$ 7,95	15,00	50,00
Dia 14	5288,56 $\pm$ 1262,40	3638,00	8415,00	40,13 $\pm$ 5,97	30,00	55,00
Dia 15	4737,22 $\pm$ 1106,74	2624,00	6760,00	36,44 $\pm$ 5,47	30,00	50,00
Dia 17	4289,76 $\pm$ 1079,98	1952,00	5814,00	35,82 $\pm$ 6,75	22,00	48,00
Dia 29	4145,18 $\pm$ 685,05	3003,00	6200,00	38,10 $\pm$ 4,40	32,00	50,00

\*Valores de referência: Harvey (1990); Dia 1: 14 dias antes do desmame; Dia 14: dia do desmame; Dia 15: um dia após o desmame; Dia 17: dois dias após o desmame,

Tabela 19: Média total, mínimo e máximo para valores relativos (%) e absolutos para basófilos, eosinófilos, monócitos e relação neutrófilo:linfócito e bastonetes:neutrófilos, para potros submetidos ao estresse do desmame

Dia da colheita	Total – Valores absolutos			Total – Valores relativos		
	Média $\pm$ desvio	Mínimo	Máximo	Média $\pm$ desvio	Mínimo	Máximo
<b>Basófilos (/µl) 0-60/µl*</b>						
Dia 1	6,60 $\pm$ 29,52	0,00	132,00	0,05 $\pm$ 0,22	0,00	1,00
Dia 14	32,19 $\pm$ 75,35	0,00	264,00	0,25 $\pm$ 0,58	0,00	2,00
Dia 15	29,25 $\pm$ 104,01	0,00	453,00	0,20 $\pm$ 0,70	0,00	3,00
Dia 17	140,18 $\pm$ 158,43	0,00	522,00	1,12 $\pm$ 1,05	0,00	3,00
Dia 29	19,80 $\pm$ 60,97	0,00	204,00	0,20 $\pm$ 0,62	0,00	2,00
<b>Eosinófilos (/µl) 0-55/µl*</b>						
Dia 1	94,35 $\pm$ 172,95	0,00	605,00	0,75 $\pm$ 1,37	0,00	5,00
Dia 14	272,03 $\pm$ 243,09	0,00	852,00	2,06 $\pm$ 1,73	0,00	6,00
Dia 15	170,24 $\pm$ 258,85	0,00	828,00	1,31 $\pm$ 1,87	0,00	6,00
Dia 17	330,59 $\pm$ 228,02	117,00	1044,00	2,65 $\pm$ 1,27	1,00	6,00
Dia 29	207,45 $\pm$ 260,37	0,00	952,00	1,85 $\pm$ 2,28	0,00	8,00
<b>Monócitos (/µl) 4-45/µl*</b>						
Dia 1	818,05 $\pm$ 296,29	161,00	1715,00	6,75 $\pm$ 2,05	1,00	11,00
Dia 14	825,41 $\pm$ 299,40	214,00	1510,00	6,25 $\pm$ 2,02	2,00	10,00
Dia 15	862,91 $\pm$ 430,78	364,50	2265,00	6,71 $\pm$ 3,26	3,00	15,00
Dia 17	795,47 $\pm$ 425,95	147,00	1914,00	6,71 $\pm$ 3,08	1,00	13,00
Dia 29	760,16 $\pm$ 270,25	0,00	1116,00	6,75 $\pm$ 2,86	0,00	12,00
<b>Neutrófilos:linfócitos 1,00:1,00 (1,00) *</b>						
Dia 1	1,55 $\pm$ 0,85	0,84	4,67			
Dia 14	1,23 $\pm$ 0,33	0,71	1,83			
Dia 15	1,42 $\pm$ 0,39	0,64	2,07			
Dia 17	1,43 $\pm$ 0,47	0,69	2,55			
Dia 29	1,32 $\pm$ 0,27	0,70	1,72			
<b>Bastonetes:neutrófilos 0,02 <math>\pm</math> 0,07**</b>						
Dia 1	0,10 $\pm$ 0,05	0,00	0,18			
Dia 14	0,08 $\pm$ 0,05	0,00	0,120			
Dia 15	0,11 $\pm$ 0,05	0,05	0,25			
Dia 17	0,10 $\pm$ 0,05	0,04	0,21			
Dia 29	0,08 $\pm$ 0,06	0,00	2,00			

\*Valores de referência: Harvey (1990); \*\*Valores de referência: Brewer, (1990). Dia 1: 14 dias antes do desmame; Dia 14: dia do desmame; Dia 15: um dia após o desmame; Dia 17: dois dias após o desmame,

Tabela 20: Comparação estatística para valores totais de leucócitos

FV	GL	SQ	QM	F	P
Total	92	712,21787312	6,47471612		
Modelo					
Grupo	1	55,16526085	55,16526085	8,52	0,0045
Tempo	4	71,78664724	17,94666181	2,77	0,0324
Grupo*tempo	4	48,35519407	12,08879852	1,87	0,1239
Erro	83	537,40143801			
<b>Coefficiente de Variação</b>		20,63793			
<b>Teste estatístico:</b>	SNK				
<b>Valor P: comparações entre dias, dentro do grupo</b>			<b>Valor de P: comparações entre grupo, dentro do tempo</b>		
	<b>G1</b>	<b>G2</b>			
Dia 1x Dia 14	0,4139	0,2166			
Dia 1 x Dia 15	0,7473	0,4254			
Dia 1 x Dia 17	<b>0,0294</b>	0,3429	Dia 1 G1 x G2	<b>0,0014</b>	
Dia 1 x Dia 29	<b>0,0023</b>	0,8067	Dia 14 G1 x G2	0,3168	
Dia 14 x Dia 15	0,6131	0,6114	Dia 15 G1 x G2	<b>0,0309</b>	
Dia 14 x Dia 17	0,1788	0,7586	Dia 17 G1 x G2	0,9598	
Dia 14 x Dia 29	<b>0,0285</b>	0,1452	Dia 29 G1 x G2	0,8188	
Dia 15 x Dia 17	0,0606	0,8467			
Dia 15 x Dia 29	<b>0,0060</b>	0,2984			
Dia 17 x Dia 29	0,4063	0,2387			

Tabela 21: Comparação estatística para valores absolutos de bastonetes

FV	GL	SQ	QM	F	P
Total	92	15136920,59161290			
Modelo					
Grupo	1	1119688,33845600	1119688,33845600	8,34	0,0049
Tempo	4	1798853,05940511	449713,26485128	3,35	0,0136
Grupo*tempo	4	1146773,37951850	286693,34487962	2,14	0,0837
Erro	83	11145101,00656560	134278,32538031		
<b>Coefficiente de Variação</b>		64,67682			
<b>Teste estatístico:</b>	SNK				
<b>Valor P: comparações entre dias, dentro do grupo</b>			<b>Valor de P: comparações entre grupo, dentro do tempo</b>		
	<b>G1</b>	<b>G2</b>			
Dia 1x Dia 14	<b>0,0011</b>	0,7562			
Dia 1 x Dia 15	0,3788	0,4656			
Dia 1 x Dia 17	0,1845	0,8680	Dia 1 G1 x G2	<b>0,0014</b>	
Dia 1 x Dia 29	<b>0,0011</b>	0,4932	Dia 14 G1 x G2	0,5351	
Dia 14 x Dia 15	<b>0,0131</b>	0,7223	Dia 15 G1 x G2	0,0966	
Dia 14 x Dia 17	<b>0,0489</b>	0,6524	Dia 17 G1 x G2	0,0653	
Dia 14 x Dia 29	0,90,81	0,3484	Dia 29 G1 x G2	0,6848	
Dia 15 x Dia 17	0,6323	0,3937			
Dia 15 x Dia 29	<b>0,0146</b>	0,1604			
Dia 17 x Dia 29	0,0556	0,6281			

Tabela 22: Comparação estatística para valores relativos de bastonetes

FV	GL	SQ	QM	F	P
Total	92	549,23569892			
Modelo					
Grupo	1	20,38254545	20,38254545	3,90	0,0517
Tempo	4	56,05217536	14,01304384	2,68	0,0372
Grupo*tempo	4	39,57164790	9,89291198	1,89	0,1195
Erro	83	434,01464646	5,22909213		
<b>Coefficiente de Variação</b>		51,23224			
<b>Teste estatístico:</b>	SNK				
<b>Valor P: comparações entre dias, dentro do grupo</b>			<b>Valor de P: comparações entre grupo, dentro do tempo</b>		
	<b>G1</b>	<b>G2</b>			
Dia 1x Dia 14	<b>0,0081</b>	0,9490			
Dia 1 x Dia 15	0,9182	0,4523			
Dia 1 x Dia 17	0,6629	0,5440	Dia 1 G1 x G2		0,1005
Dia 1 x Dia 29	0,0671	0,3081	Dia 14 G1 x G2		0,2326
Dia 14 x Dia 15	<b>0,0107</b>	0,5312	Dia 15 G1 x G2		0,4054
Dia 14 x Dia 17	<b>0,0030</b>	0,5337	Dia 17 G1 x G2		<b>0,0130</b>
Dia 14 x Dia 29	0,3642	0,3177	Dia 29 G1 x G2		0,4934
Dia 15 x Dia 17	0,05924	0,1886			
Dia 15 x Dia 29	0,0834	0,0786			
Dia 17 x Dia 29	<b>0,0421</b>	0,7171			

Tabela 23: Comparação estatística para valores absolutos de neutrófilos segmentados

FV	GL	SQ	QM	F	P
Total	92	354862108,95247300			
Modelo					
Grupo	1	16181994,03111160	16181994,03111160	4,74	0,0324
Tempo	4	25662351,42091080	6415587,85522772	1,88	0,1221
Grupo*tempo	4	30812598,44866980	7703149,61216746	2,25	0,0701
Erro	83	283620535,02146400	3417114,87977668		
<b>Coefficiente de Variação</b>		30,10372			
<b>Teste estatístico:</b>	SNK				
<b>Valor P: comparações entre dias, dentro do grupo</b>			<b>Valor de P: comparações entre grupo, dentro do tempo</b>		
	<b>G1</b>	<b>G2</b>			
Dia 1x Dia 14	<b>0,0430</b>	0,4916			
Dia 1 x Dia 15	0,0813	0,2533			
Dia 1 x Dia 17	<b>0,0004</b>	0,4041	Dia 1 G1 x G2		<b>0,0005</b>
Dia 1 x Dia 29	<b>0,0018</b>	0,8621	Dia 14 G1 x G2		0,5341
Dia 14 x Dia 15	0,7324	0,7162	Dia 15 G1 x G2		0,4931
Dia 14 x Dia 17	0,4014	0,9086	Dia 17 G1 x G2		0,7344
Dia 14 x Dia 29	0,2864	0,3974	Dia 29 G1 x G2		0,6800
Dia 15 x Dia 17	0,2294	0,8012			
Dia 15 x Dia 29	0,1481	0,1890			
Dia 17 x Dia 29	0,8379	0,3183			

Tabela 24: Comparação estatística para valores relativos de neutrófilos segmentados

	<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
Total		92	4356,32258065			
Modelo						
Grupo		1	0,70303614	0,70303614	0,02	0,9027
Tempo		4	129,47840381	32,36960095	0,69	0,5997
Grupo*tempo		4	359,00566843	89,75141711	1,92	0,1150
Erro		83	3883,66414141	46,79113423		
<b>Coefficiente de Variação</b>			13,86871			
<b>Teste estatístico:</b>		SNK				

Tabela 25: Comparação estatística para valores absolutos de linfócitos atípicos

	<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
Total		92	379660,12903226			
Modelo						
Grupo		1	7193,99370730	7193,99370730	1,74	0,1913
Tempo		4	16408,49279801	4102,12319950	0,99	0,4178
Grupo*tempo		4	14978,36065379	3744,59016345	0,90	0,4658
Erro		83	343985,05681818	4144,39827492		
<b>Coefficiente de Variação</b>			323,4501			
<b>Teste estatístico:</b>		SNK				

Tabela 26: Comparação estatística para valores relativos de linfócitos atípicos

	<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
Total		92	31,89247312			
Modelo						
Grupo		1	0,53959246	0,53959246	1,55	0,2161
Tempo		4	1,23290963	0,30822741	0,89	0,4751
Grupo*tempo		4	1,58915884	0,39728971	1,14	0,3416
Erro		83	28,82070707	0,34723743		
<b>Coefficiente de Variação</b>			322,3646			
<b>Teste estatístico:</b>		SNK				

Tabela 27: Comparação estatística para valores relativos de linfócitos

	<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
Total		92	3599,81451613			
Modelo						
Grupo		1	8,27518100	8,27518100	0,22	0,6400
Tempo		4	201,27767408	50,31941852	1,34	0,2638
Grupo*tempo		4	259,42862961	64,85715740	1,72	0,1531
Erro		83	3128,40151515	37,69158452		
<b>Coefficiente de Variação</b>			16,43167			
<b>Teste estatístico:</b>		SNK				

Tabela 28: Comparação estatística para valores absolutos de linfócitos

FV	GL	SQ	QM	F	P
Total	92	98715151,76473110			
Modelo					
Grupo	1	4320186,87605538	4320186,87605538	4,96	0,0287
Tempo	4	15034151,00678780	3758537,75169695	4,31	0,0032
Grupo*tempo	4	7629365,47936277	1907341,36984069	2,19	0,0772
Erro	83	72318790,52934320	871310,72926920		
<b>Coefficiente de Variação</b>		20,52988			
<b>Teste estatístico:</b>	SNK				
<b>Valor P: comparações entre dias, dentro do grupo</b>			<b>Valor de P: comparações entre grupo, dentro do tempo</b>		
	<b>G1</b>	<b>G2</b>			
Dia 1x Dia 14	<b>0,0119</b>	0,1530			
Dia 1 x Dia 15	<b>0,0241</b>	0,6469			
Dia 1 x Dia 17	0,7058	0,9424	Dia 1 G1 x G2		0,6517
Dia 1 x Dia 29	0,3175	0,8608	Dia 14 G1 x G2		0,1208
Dia 14 x Dia 15	0,7321	0,0659	Dia 15 G1 x G2		<b>0,0014</b>
Dia 14 x Dia 17	<b>0,0052</b>	0,1519	Dia 17 G1 x G2		0,9149
Dia 14 x Dia 29	<b>0,0108</b>	0,1126	Dia 29 G1 x G2		0,6648
Dia 15 x Dia 17	<b>0,0006</b>	0,7170			
Dia 15 x Dia 29	<b>0,0014</b>	0,7772			
Dia 17 x Dia 29	0,5523	0,9250			

Tabela 29: Comparação estatística para valores absolutos de basófilos

FV	GL	SQ	QM	F	P
Total	92	982924,45161290			
Modelo					
Grupo	1	11450,95761225	11450,95761225	1,29	0,2602
Tempo	4	207827,50795287	51956,87698822	5,83	0,0003
Grupo*tempo	4	29275,85719481	7318,96429870	0,82	0,5152
Erro	83	739531,73358586	8910,02088658		
<b>Coefficiente de Variação</b>		218,8616			
<b>Teste estatístico:</b>	SNK				
<b>Valor P: comparações entre dias, dentro do grupo</b>			<b>Valor de P: comparações entre grupo, dentro do tempo</b>		
	<b>G1</b>	<b>G2</b>			
Dia 1x Dia 14	0,6904	0,4764			
Dia 1 x Dia 15	1,0000	0,3092			
Dia 1 x Dia 17	<b>0,0005</b>	<b>0,0169</b>	Dia 1 G1 x G2		0,7304
Dia 1 x Dia 29	0,5115	1,0000	Dia 14 G1 x G2		0,8525
Dia 14 x Dia 15	0,6904	0,8236	Dia 15 G1 x G2		<b>0,0493</b>
Dia 14 x Dia 17	<b>0,0023</b>	0,1199	Dia 17 G1 x G2		0,0925
Dia 14 x Dia 29	0,8111	0,4764	Dia 29 G1 x G2		0,3027
Dia 15 x Dia 17	<b>0,0005</b>	0,1460			
Dia 15 x Dia 29	0,5116	0,3092			
Dia 17 x Dia 29	<b>0,0036</b>	<b>0,0169</b>			

Tabela 30: Comparação estatística para valores relativos de basófilos.

	<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
Total		92	52,98924731			
Modelo						
Grupo		1	1,14067846	1,14067846	2,58	0,1122
Tempo		4	13,23713257	3,30928314	7,48	0,0001
Grupo*tempo		4	2,29056613	0,57264153	1,29	0,2792
Erro		83	36,73737374	0,44261896		
<b>Coefficiente de Variação</b>			193,3517			
<b>Teste estatístico:</b>		SNK				
	<b>Valor P: comparações entre dias, dentro do grupo</b>		<b>G2</b>	<b>Valor de P: comparações entre grupo, dentro do tempo</b>		
	<b>G1</b>					
Dia 1x Dia 14	0,6686		0,4210			
Dia 1 x Dia 15	1,0000		0,3392			
Dia 1 x Dia 17	<b>0,0001</b>		<b>0,0110</b>	Dia 1 G1 x G2	0,7112	
Dia 1 x Dia 29	0,2992		1,0000	Dia 14 G1 x G2	1,0000	
Dia 14 x Dia 15	0,6686		0,9416	Dia 15 G1 x G2	0,5903	
Dia 14 x Dia 17	<b>0,0003</b>		0,1063	Dia 17 G1 x G2	<b>0,0282</b>	
Dia 14 x Dia 29	0,5492		0,4210	Dia 29 G1 x G2	0,1410	
Dia 15 x Dia 17	<b>0,0001</b>		0,0950			
Dia 15 x Dia 29	0,2909		0,3392			
Dia 17 x Dia 29	<b>0,0016</b>		<b>0,0110</b>			

Tabela 31: Comparação estatística para valores absolutos de eosinófilos

	<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
Total		92	5455510,61291183			
Modelo						
Grupo		1	2536,70275187	2536,70275187	0,04	0,8334
Tempo		4	590865,17233187	147716,29308297	2,59	0,0423
Grupo*tempo		4	116113,37660235	29028,34415059	0,51	0,7287
Erro		83	4727142,38936616	56953,52276345		
<b>Coefficiente de Variação</b>			114,3256			
<b>Teste estatístico:</b>		SNK				
	<b>Valor P: comparações entre dias, dentro do grupo</b>		<b>G2</b>	<b>Valor de P: comparações entre grupo, dentro do tempo</b>		
	<b>G1</b>					
Dia 1x Dia 14	0,1640		0,0854			
Dia 1 x Dia 15	0,1586		0,9451			
Dia 1 x Dia 17	0,0599		<b>0,0223</b>	Dia 1 G1 x G2	0,9623	
Dia 1 x Dia 29	0,3569		0,2403	Dia 14 G1 x G2	0,7680	
Dia 14 x Dia 15	0,9810		0,0972	Dia 15 G1 x G2	0,1715	
Dia 14 x Dia 17	0,6260		0,6258	Dia 17 G1 x G2	0,7721	
Dia 14 x Dia 29	0,6147		0,5140	Dia 29 G1 x G2	0,8436	
Dia 15 x Dia 17	0,5994		<b>0,0262</b>			
Dia 15 x Dia 29	0,6210		0,2686			
Dia 17 x Dia 29	0,3160		0,2309			

Tabela 32: Comparação estatística para valores relativos de eosinófilos

	<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
Total		92	310,39698925			
Modelo						
Grupo		1	0,00160892	0,00160892	0,00	0,9822
Tempo		4	38,19601638	9,54900410	2,97	0,0239
Grupo*tempo		4	4,88968946	1,22242237	0,38	0,8219
Erro		83	266,57828283	3,21178654		
<b>Coefficiente de Variação</b>			106,7710			
<b>Teste estatístico:</b>		SNK				
	<b>Valor P: comparações entre dias, dentro do grupo</b>		<b>G1</b>	<b>G2</b>	<b>Valor de P: comparações entre grupo, dentro do tempo</b>	
Dia 1x Dia 14		0,1690		0,0893		
Dia 1 x Dia 15		0,1921		0,8962		
Dia 1 x Dia 17		<b>0,0272</b>		<b>0,0243</b>	Dia 1 G1 x G2	0,8513
Dia 1 x Dia 29		0,2399		0,1258	Dia 14 G1 x G2	0,6767
Dia 14 x Dia 15		0,9114		0,1135	Dia 15 G1 x G2	0,2892
Dia 14 x Dia 17		0,4050		0,6336	Dia 17 G1 x G2	0,9620
Dia 14 x Dia 29		0,8115		0,7648	Dia 29 G1 x G2	0,6801
Dia 15 x Dia 17		,03334		<b>0,0328</b>		
Dia 15 x Dia 29		0,8957		0,1606		
Dia 17 x Dia 29		0,2743		0,4103		

Tabela 33: Comparação estatística para valores absolutos de monócitos

	<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
Total		92	11051509,51247310			
Modelo						
Grupo		1	668,47042683	668,47042683	0,01	0,9421
Tempo		4	245738,85463239	61434,71365810	0,49	0,7449
Grupo*tempo		4	366355,98227056	91588,99556764	0,73	0,5762
Erro		83	10460399,86374990	126028,91402108		
<b>Coefficiente de Variação</b>			44,16685			
<b>Teste estatístico:</b>		SNK				

Tabela 34: Comparação estatística para valores relativos de monócitos

	<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
Total		92	652,97118280			
Modelo						
Grupo		1	6,58642150	6,58642150	0,87	0,3538
Tempo		4	2,77431986	0,69357996	0,09	0,9849
Grupo*tempo		4	14,47322163	3,61830541	0,48	0,7520
Erro		83	628,66590909	7,57428806		
<b>Coefficiente de Variação</b>			41,40904			
<b>Teste estatístico:</b>		SNK				

Tabela 35: Comparação estatística para relação neutrófilos:linfócitos

	<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
Total		92	24,25329941			
Modelo						
Grupo		1	0,22181229	0,22181229	0,90	0,3453
Tempo		4	1,27200473	0,31800118	1,29	0,2801
Grupo*tempo		4	2,47614324	0,61903581	2,51	0,0476
Erro		83	20,43824084	0,24624387		
<b>Coefficiente de Variação</b>			<b>35,53813</b>			
	<b>Valor P: comparações entre dias, dentro do grupo</b>			<b>Valor de P: comparações entre grupo, dentro do tempo</b>		
	<b>G1</b>	<b>G2</b>				
Dia 1x Dia 14	<b>0,0038</b>	0,9824				
Dia 1 x Dia 15	<b>0,0072</b>	0,1664				
Dia 1 x Dia 17	<b>0,0363</b>	0,3479		Dia 1 G1 x G2	<b>0,0025</b>	
Dia 1 x Dia 29	<b>0,0204</b>	0,8490		Dia 14 G1 x G2	0,9058	
Dia 14 x Dia 15	0,7580	0,2116		Dia 15 G1 x G2	0,2748	
Dia 14 x Dia 17	0,4089	0,3966		Dia 17 G1 x G2	0,9048	
Dia 14 x Dia 29	0,4933	0,8787		Dia 29 G1 x G2	0,6514	
Dia 15 x Dia 17	0,5872	0,7047				
Dia 15 x Dia 29	0,6971	0,2316				
Dia 17 x Dia 29	0,8685	0,4477				

Tabela 36: Comparação estatística para relação bastonetes:neutrófilos

	<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
Total		92	0,25990183			
Modelo						
Grupo		1	0,00620684	0,00620684	2,39	0,1256
Tempo		4	0,01937374	0,00484344	1,87	0,1237
Grupo*tempo		4	0,01969303	0,00492326	1,90	0,1183
Erro		83	0,21518129	0,00259255		
<b>Coefficiente de Variação</b>			<b>54,91278</b>			

Tabela 37: Comparação estatística para valores de gastrina

FV	GL	SQ	QM	F	P
Total	92	4875,24731183			
Modelo					
Grupo	1	0,56472821	0,56472821	0,01	0,9149
Tempo	4	729,69274637	182,42318659	3,71	0,0079
Grupo*tempo	4	73,55679275	18,38919819	0,37	0,8266
Erro	83	4081,82575758	49,17862359		
<b>Coefficiente de Variação</b>		14,76535			
<b>Valor P: comparações entre dias, dentro do grupo</b>			<b>Valor de P: comparações entre grupo, dentro do tempo</b>		
	<b>G1</b>	<b>G2</b>			
Dia 1x Dia 14	<b>0,0460</b>	0,1957			
Dia 1 x Dia 15	0,4470	0,5055			
Dia 1 x Dia 17	<b>0,0190</b>	0,3096	Dia 1 G1 x G2		0,3807
Dia 1 x Dia 29	0,8934	0,4864	Dia 14 G1 x G2		0,9716
Dia 14 x Dia 15	0,2056	0,0585	Dia 15 G1 x G2		0,5743
Dia 14 x Dia 17	0,7224	0,7637	Dia 17 G1 x G2		0,5293
Dia 14 x Dia 29	0,0615	0,0550	Dia 29 G1 x G2		0,9389
Dia 15 x Dia 17	0,1043	0,1013			
Dia 15 x Dia 29	0,5248	0,4758			
Dia 17 x Dia 29	<b>0,0263</b>	0,0956			

Tabela 38: Comparação dos escores macroscópicos, endoscopia 1, entre grupos

	Grupo 1	Grupo 2		
Número de amostras	9	11		
Soma do escore	45,00	165,00		
Expectativa sobre H0	94,50	115,50		
Escore médio	5,00	15,00		
Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	45,0	-3,94390	0,0001

Tabela 39: Comparação dos escores macroscópicos, endoscopia 2, entre grupos

	Grupo 1	Grupo 2		
Número de amostras	8	11		
Soma do escore	88,00	102,00		
Expectativa sobre H0	80,00	110,00		
Escore médio	11,00	9,2727273		
Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	88,0	0,677378	0,4856

Tabela 40: Comparação dos escores macroscópicos, endoscopia 3, entre grupos

	Grupo 1	Grupo 2
Número de amostras	9	11
Soma do escore	81,00	129,0
Expectativa sobre H0	94,50	115,50
Escore médio	9,00	11,727227

Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	81,00	-1,30142	0,1931

Tabela 41 Comparação dos escores macroscópicos, entre endoscopias, Grupo 1

	Endoscopia 1	Endoscopia 2	Endoscopia 3
Número de amostras	9	8	9
Soma do escore	45,00	153,00	153,00
Expectativa sobre H0	121,50	108,00	121,50
Escore médio	5,00	19,125	17,00

Teste estatístico	GL	Prob >  Z	
Kruskall-Wallis	2	0,001	
	Endoscopia 1	Endoscopia 2	Endoscopia 3
	A	B	B

Tabela 42: Comparação dos escores macroscópicos, entre endoscopias, Grupo 2

	Endoscopia 1	Endoscopia 2	Endoscopia 3
Número de amostras	11	11	11
Soma do escore	173,00	173,0	215,00
Expectativa sobre H0	187,00	187,00	187,0
Escore médio	15,7272727	15,7272727	19,5454545

Teste estatístico	GL	Prob >  Z	
Kruskall-Wallis	2	0,5316	
	Endoscopia 1	Endoscopia 2	Endoscopia 3
	A	A	A

Tabela 43: Teste da uréase -valores totais após 96 horas, endoscopia 1 Margo

	Grupo 1	Grupo 2
Negativo	4	7
Positivo	5	4
Total	9	11

Teste estatístico	GL	Valor	P
Qui-quadrado	1	0,737	0,391

Tabela 44: Teste da uréase -valores totais após 96 horas, endoscopia 2 Margo

	Grupo 1	Grupo 2
Negativo	2	1
Positivo	5	9
Total	7	10

Teste estatístico	GL	Valor	P
Qui-quadrado	1	0,977	0,323

Tabela 45: Teste da uréase -valores totais após 96 horas, endoscopia 3, Margo

	Grupo 1	Grupo 2
Negativo	3	5
Positivo	6	6
Total	9	11

Teste estatístico	GL	Valor	P
Qui-quadrado	1	0,303	0,582

Tabela 46: Teste da uréase -valores totais após 96 horas, endoscopia 1, Antro

	Grupo 1	Grupo 2
Negativo	3	6
Positivo	6	5
Total	9	11

Teste estatístico	GL	Valor	P
Qui-quadrado	1	0,900	0,343

Tabela 47: Teste da uréase -valores totais após 96 horas, endoscopia 2, Antro

	Grupo 1	Grupo 2
Negativo	4	5
Positivo	3	5
Total	7	10

Teste estatístico	GL	Valor	P
Qui-quadrado	1	0,084	0,772

Tabela 48: Teste da uréase -valores totais após 96 horas, endoscopia 3, Antro

	Grupo 1	Grupo 2
Negativo	2	0
Positivo	7	11
Total	9	11

Teste estatístico	GL	Valor	P
Qui-quadrado	1	0,084	0,772

Tabela 49: Teste da uréase -valores totais após 96 horas, grupo 1, Margo

	Endoscopia 1	Endoscopia 2	Endoscopia 3
Negativo	4	2	3
Positivo	5	5	6
Total	9	7	9

Teste estatístico	GL	Valor	P
Qui-quadrado	2	0,474	0,789

Tabela 50: Teste da uréase -valores totais após 96 horas, grupo 1, Antro

	Endoscopia 1	Endoscopia 2	Endoscopia 3
Negativo	3	4	2
Positivo	6	3	7
Total	9	7	9
Teste estatístico	GL	Valor	P
Qui-quadrado	2	2,127	0,345

Tabela 51: Teste da uréase -valores totais após 96 horas, grupo 2, Margo

	Endoscopia 1	Endoscopia 2	Endoscopia 3
Negativo	7	1	5
Positivo	4	9	6
Total	11	10	11
Teste estatístico	GL	Valor	P
Qui-quadrado	2	6,409	0,041
	B	A	AB

Tabela 52: Teste da uréase -valores totais após 96 horas, grupo 2, Antro

	Endoscopia 1	Endoscopia 2	Endoscopia 3
Negativo	6	5	0
Positivo	5	5	11
Total	11	10	11
Teste estatístico	GL	Valor	P
Qui-quadrado	2	8,828	0,012
	B	B	A

Tabela 53: Comparação dos escores histológicos - atividade, endoscopia 1, entre grupos: Corpo

	Grupo 1	Grupo 2		
Número de amostras	7	11		
Soma do escore	66,500000	104,500000		
Expectativa sobre H0	66,500000	104,500000		
Escore médio	9,50000000	9,50000000		
Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	66,5000	0	1,0000

Tabela 54: Comparação dos escores histológicos – inflamação, endoscopia 1, entre grupos: Corpo

	Grupo 1	Grupo 2		
Número de amostras	7	11		
Soma do escore	52,500000	118,500000		
Expectativa sobre H0	66,500000	104,500000		
Escore médio	7,5000000	10,7727273		
Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	52,5000	-1,68201	0,0926

Tabela 55: Comparação dos escores histológicos – atrofia, endoscopia 1, entre grupos: Corpo

	Grupo 1	Grupo 2
Número de amostras	7	11
Soma do escore	63,0	108,0
Expectativa sobre H0	66,500000	104,500000
Escore médio	9,00000000	9,81818182

Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	63,00	-0,289247	0,7724

Tabela 56: Comparação dos escores histológicos – metaplasia, endoscopia 1, entre grupos: Corpo

	Grupo 1	Grupo 2
Número de amostras	7	11
Soma do escore	64,500000	106,500000
Expectativa sobre H0	66,500000	104,500000
Escore médio	9,21428571	9,68181818

Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	64,500	-0,151127	0,8799

Tabela 57: Comparação dos escores histológicos - atividade, endoscopia 1, entre grupos: Antro

	Grupo 1	Grupo 2
Número de amostras	9	11
Soma do escore	94,500000	115,500000
Expectativa sobre H0	94,500000	115,500000
Escore médio	10,5000000	10,5000000

Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	94,500	0	1,0000

Tabela 58: Comparação dos escores histológicos – inflamação, endoscopia 1, entre grupos: Antro

	Grupo 1	Grupo 2
Número de amostras	9	11
Soma do escore	100,0	110,0
Expectativa sobre H0	94,500000	115,500000
Escore médio	11,1111111	10,0000000

Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	100,00	0,405879	0,6848

Tabela 59 Comparação dos escores histológicos – atrofia, endoscopia 1, entre grupos: Antro

	Grupo 1	Grupo 2
Número de amostras	9	11
Soma do escore	86,500000	123,500000
Expectativa sobre H0	94,500000	115,500000
Escore médio	9,6111111	11,2272727

Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	86,5000	-0,595425	0,5516

Tabela 60: Comparação dos escores histológicos – metaplasia, endoscopia 2, entre grupos: Antro

	Grupo 1	Grupo 2		
Número de amostras	9	11		
Soma do escore	110,0	100,0		
Expectativa sobre H0	94,500000	115,500000		
Escore médio	12,222222	9,090909		
Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	110,000	1,21503	0,2244

Tabela 61: Comparação dos escores histológicos - atividade, endoscopia 1, entre grupos: *Margo plicatus*

	Grupo 1	Grupo 2		
Número de amostras	8	9		
Soma do escore	64,0	89,0		
Expectativa sobre H0	72,0	81,0		
Escore médio	8,000000	9,888888		
Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	64,000	-1,28847	0,1976

Tabela 62: Comparação dos escores histológicos – inflamação, endoscopia 1, entre grupos: *Margo plicatus*

	Grupo 1	Grupo 2		
Número de amostras	8	9		
Soma do escore	58,0	95,0		
Expectativa sobre H0	72,0	81,0		
Escore médio	7,250000	10,555556		
Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	58,000	-1,42829	0,1532

Tabela 63: Comparação dos escores histológicos – atrofia, endoscopia 1, entre grupos: *Margo plicatus*

	Grupo 1	Grupo 2		
Número de amostras	8	9		
Soma do escore	79,0	74,0		
Expectativa sobre H0	72,0	81,0		
Escore médio	9,875000	8,222222		
Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	79,000	0,65027	0,5099

Tabela 64: Comparação dos escores histológicos – metaplasia, endoscopia 1, entre grupos: *Margo plicatus*

	Grupo 1	Grupo 2		
Número de amostras	8	9		
Soma do escore	70,500000	82,500000		
Expectativa sobre H0	72,0	81,0		
Escore médio	8,812500	9,166667		
Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	70,5000	-0,103013	0,9180

Tabela 65: Comparação dos escores histológicos - atividade, endoscopia 2, entre grupos: Corpo

	Grupo 1	Grupo 2
Número de amostras	7	10
Soma do escore	59,500000	93,500000
Expectativa sobre H0	63,0	90,0
Escore médio	8,5000000	9,3500000

Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	59,5000	-0,717137	0,4733

Tabela 66: Comparação dos escores histológicos – inflamação, endoscopia 2, entre grupos: Corpo

	Grupo 1	Grupo 2
Número de amostras	7	10
Soma do escore	66,0	87,0
Expectativa sobre H0	63,0	90,0
Escore médio	9,42857143	8,7000000

Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	66,0000	0,331497	0,7403

Tabela 67: Comparação dos escores histológicos – atrofia, endoscopia 2, entre grupos: Corpo

	Grupo 1	Grupo 2
Número de amostras	7	10
Soma do escore	78,50000	74,50000
Expectativa sobre H0	63,0	90,0
Escore médio	11,2142875	7,4500000

Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	78,50000	1,66467	0,0960

Tabela 68: Comparação dos escores histológicos – metaplasia, endoscopia 2, entre grupos: Corpo

	Grupo 1	Grupo 2
Número de amostras	7	10
Soma do escore	48,0	105,0
Expectativa sobre H0	63,0	90,0
Escore médio	6,8571429	10,500000

Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	48,0000	-1,48998	0,1362

Tabela 69: Comparação dos escores histológicos - atividade, endoscopia 2, entre grupos: Antro

	Grupo 1	Grupo 2
Número de amostras	7	9
Soma do escore	59,50000	76,50000
Expectativa sobre H0	59,50000	76,50000
Escore médio	8,500000	8,500000

Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	59,50000	0	1,0000

Tabela 70: Comparação dos escores histológicos – inflamação, endoscopia 2, entre grupos: Antro

	Grupo 1	Grupo 2
Número de amostras	7	9
Soma do escore	49,50000	86,50000
Expectativa sobre H0	59,50000	76,50000
Escore médio	7,07142857	9,611111

Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	49,50000	-1,08140	0,2795

Tabela 71: Comparação dos escores histológicos – atrofia, endoscopia 2, entre grupos: Antro

	Grupo 1	Grupo 2
Número de amostras	7	9
Soma do escore	65,500000	70,50000
Expectativa sobre H0	59,50000	76,50000
Escore médio	9,3714286	7,8333333

Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	65,50000	0,622902	0,5333

Tabela 72: Comparação dos escores histológicos – metaplasia, endoscopia 2, entre grupos: Antro

	Grupo 1	Grupo 2
Número de amostras	7	9
Soma do escore	66,0	70,0
Expectativa sobre H0	59,500000	76,500000
Escore médio	9,42857143	7,7777778

Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	66,0000	0,667827	0,5042

Tabela 73: Comparação dos escores histológicos - atividade, endoscopia 2, entre grupos: *Margo plicatus*

	Grupo 1	Grupo 2
Número de amostras	7	9
Soma do escore	45,50000	90,500000
Expectativa sobre H0	59,50000	76,50000
Escore médio	6,5000000	10,0555556

Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	45,50000	-1,87970	0,0601

Tabela 74: Comparação dos escores histológicos – inflamação, endoscopia 2, entre grupos: *Margo plicatus*

	Grupo 1	Grupo 2
Número de amostras	7	9
Soma do escore	57,5000000	78,500000
Expectativa sobre H0	59,50000	76,50000
Escore médio	8,21428571	8,72222222

Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	57,500000	-0,180702	0,8566

Tabela 75: Comparação dos escores histológicos – atrofia, endoscopia 2, entre grupos: *Margo plicatus*

	Grupo 1	Grupo 2
Número de amostras	7	9
Soma do escore	60,500000	75,500000
Expectativa sobre H0	59,50000	76,50000
Escore médio	8,64285714	8,38888889

Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	60,50000	0,058269	0,9535

Tabela 76: Comparação dos escores histológicos – metaplasia, endoscopia 2, entre grupos: *Margo plicatus*

	Grupo 1	Grupo 2
Número de amostras	7	9
Soma do escore	47,0	89,0
Expectativa sobre H0	59,500000	76,500000
Escore médio	6,71248571	9,88888889

Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	47,00000	-1,47396	0,1405

Tabela 77: Comparação dos escores histológicos - atividade, endoscopia 3, entre grupos: Corpo

	Grupo 1	Grupo 2
Número de amostras	9	11
Soma do escore	95,0	115,0
Expectativa sobre H0	85,50000	85,50000
Escore médio	9,00	10,0

Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	81,00000	-0,888889	0,3741

Tabela 78 Comparação dos escores histológicos – inflamação, endoscopia 3, entre grupos: Corpo

	Grupo 1	Grupo 2
Número de amostras	9	9
Soma do escore	66,50000	104,50000
Expectativa sobre H0	85,50000	85,00000
Escore médio	7,3888889	11,6111111

Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	66,50000	-1,73001	0,0836

Tabela 79: Comparação dos escores histológicos – atrofia, endoscopia 3, entre grupos: Corpo

	Grupo 1	Grupo 2
Número de amostras	9	9
Soma do escore	77,0	94,0
Expectativa sobre H0	85,50000	85,50000
Escore médio	8,555556	10,444444

Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	77,00	-0,776975	0,4372

Tabela 80: Comparação dos escores histológicos – metaplasia, endoscopia 3, entre grupos: Corpo

	Grupo 1	Grupo 2
Número de amostras	9	9
Soma do escore	75,0	96,0
Expectativa sobre H0	85,500000	85,500000
Escore médio	8,333333	10,666667

Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	75,0000	-0,932982	0,3508

Tabela 81: Comparação dos escores histológicos - atividade, endoscopia 3, entre grupos: Antro

	Grupo 1	Grupo 2
Número de amostras	9	11
Soma do escore	94,50000	115,50000
Expectativa sobre H0	94,50000	115,50000
Escore médio	10,50000	10,50000

Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	94,500	0	1,0000

Tabela 82: Comparação dos escores histológicos – inflamação, endoscopia 3, entre grupos: Antro

	Grupo 1	Grupo 2
Número de amostras	9	11
Soma do escore	76,50000	133,50000
Expectativa sobre H0	94,50000	115,50000
Escore médio	8,50000	12,1363636

Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	76,50000	-1,38932	0,1647

Tabela 83: Comparação dos escores histológicos – atrofia, endoscopia 3, entre grupos: Antro

	Grupo 1	Grupo 2
Número de amostras	9	11
Soma do escore	110,0	110,0
Expectativa sobre H0	94,50000	115,50000
Escore médio	12,22222	9,0909091

Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	110,000	1,22555	0,2204

Tabela 84: Comparação dos escores histológicos – metaplasia, endoscopia 3, entre grupos: Antro

	Grupo 1	Grupo 2
Número de amostras	9	11
Soma do escore	82,0	128,0
Expectativa sobre H0	94,50000	115,50000
Escore médio	9,111111	11,6363636

Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	82,0000	-0,972025	0,3310

Tabela 85: Comparação dos escores histológicos - atividade, endoscopia 3, entre grupos: *Margo plicatus*

	Grupo 1	Grupo 2		
Número de amostras	9	11		
Soma do escore	95,0	115,0		
Expectativa sobre H0	94,50000	115,50000		
Escore médio	10,555556	10,45454555		
10555				
Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	95,00	0	1,0000

Tabela 86: Comparação dos escores histológicos – inflamação, endoscopia 3, entre grupos: *Margo plicatus*

	Grupo 1	Grupo 2		
Número de amostras	9	11		
Soma do escore	94,000000	116,0000		
Expectativa sobre H0	94,50000	115,50000		
Escore médio	10,4444444	10,5454545		
Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	94,0 0000	0	1,0000

Tabela 87: Comparação dos escores histológicos – atrofia, endoscopia 3, entre grupos: *Margo plicatus*

	Grupo 1	Grupo 2		
Número de amostras	9	11		
Soma do escore	86,500000	123,50000		
Expectativa sobre H0	94,50000	115,50000		
Escore médio	9,6111111	11,2272727		
Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	86,50000	-0,615457	0,5383

Tabela 88: Comparação dos escores histológicos – metaplasia, endoscopia 3, entre grupos: *Margo plicatus*

	Grupo 1	Grupo 2		
Número de amostras	9	11		
Soma do escore	81,50000	128,50000		
Expectativa sobre H0	94,50000	115,50000		
Escore médio	9,0555556	11,6818182		
Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	81,50000	-1,02576	0,3050

Tabela 89: Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 1, Endoscopia 1: Atividade

	Corpo	Antro	<i>Margo plicatus</i>
Número de amostras	7	9	8
Soma do escore	87,50000	112,50000	100,000000
Expectativa sobre H0	87,50000	112,50000	100,0000
Escore médio	12,50000	12,50000	12,50000
Teste estatístico	GL		Prob >  Z
Kruskall-Wallis	2		1,0000
	Corpo	Antro	Margo
	A	A	A

Tabela 90: Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 1, Endoscopia 1: Inflamação

	Corpo	Antro	<i>Margo plicatus</i>
Número de amostras	7	9	8
Soma do escore	63,0	140,0	97,0
Expectativa sobre H0	87,50000	112,500	100,0000
Escore médio	9,00000	15,5555556	12,1250000
Teste estatístico	GL		Prob >  Z
Kruskall-Wallis	2		0,0694
	Corpo	Antro	Margo
	A	A	A

Tabela 91: Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 1, Endoscopia 1: Atrofia

	Corpo	Antro	<i>Margo plicatus</i>
Número de amostras	7	9	8
Soma do escore	86,0000	118,50000	95,50000
Expectativa sobre H0	87,50000	112,50000	100,0000
Escore médio	12,5857143	13,666667	11,9375000
Teste estatístico	GL		Prob >  Z
Kruskall-Wallis	2		0,9294
	Corpo	Antro	Margo
	A	A	A

Tabela 92: Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 1, Endoscopia 1: Metaplasia

	Corpo	Antro	<i>Margo plicatus</i>
Número de amostras	7	8	9
Soma do escore	56,0	151,0	93,0
Expectativa sobre H0	87,50000	112,50000	100,0000
Escore médio	8,00000	16,7777778	11,650000
Teste estatístico	GL		Prob >  Z
Kruskall-Wallis	2		0,0341
	Corpo	Antro	Margo
	B	A	AB

Tabela 93: Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 2, Endoscopia 1: Atividade

	Corpo	Antro	<i>Margo plicatus</i>
Número de amostras	11	11	9
Soma do escore	165,0	165,0	165,0
Expectativa sobre H0	176,0	176,0	176,0
Escore médio	15,0000	15,0000	18,444444
Teste estatístico	GL		Prob >  Z
Kruskall-Wallis	2		0,0800
	Corpo	Antro	Margo
	A	A	A

Tabela 94: Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 2, Endoscopia 1: Inflamação

	Corpo	Antro	<i>Margo plicatus</i>
Número de amostras	11	11	9
Soma do escore	149,0	172,0	175,0
Expectativa sobre H0	176,0	176,0	144,0
Escore médio	13,5454545	15,6363636	19,4444444
Teste estatístico	GL		Prob >  Z
Kruskall-Wallis	2		0,2926
	Corpo	Antro	Margo
	A	A	A

Tabela 95: Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 2, Endoscopia 1: Atrofia

	Corpo	Antro	<i>Margo plicatus</i>
Número de amostras	11	11	9
Soma do escore	190,50000	215,50000	90,0000
Expectativa sobre H0	176,0	176,0	144,0
Escore médio	17,3181818	19,5909091	10,00000
Teste estatístico	GL		Prob >  Z
Kruskall-Wallis	2		0,0333
	Corpo	Antro	Margo
	A	A	B

Tabela 96: Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 2, Endoscopia 1: Metaplasia

	Corpo	Antro	<i>Margo plicatus</i>
Número de amostras	11	11	9
Soma do escore	132,50000	215,0000	148,50000
Expectativa sobre H0	176,0	176,0	144,0
Escore médio	12,0454545	19,5454545	16,500000
Teste estatístico	GL		Prob >  Z
Kruskall-Wallis	2		0,1227
	Corpo	Antro	Margo
	A	A	A

Tabela 97: Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 1, Endoscopia 2: Atividade

	Corpo	Antro	<i>Margo plicatus</i>
Número de amostras	7	7	7
Soma do escore	77,0	77,0	77,0
Expectativa sobre H0	77,0	77,0	77,0
Escore médio	11,0	11,0	11,0
Teste estatístico	GL		Prob >  Z
Kruskall-Wallis	2		1,0000
	Corpo	Antro	Margo
	A	A	A

Tabela 98: Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 1, Endoscopia 2: Inflamação

	Corpo	Antro	<i>Margo plicatus</i>
Número de amostras	7	7	7
Soma do escore	69,0	83,0	79,0
Expectativa sobre H0	77,0	77,0	77,0
Escore médio	9,8571429	11,8571429	11,2857143
Teste estatístico	GL		Prob >  Z
Kruskall-Wallis	2		0,7670
	Corpo	Antro	Margo
	A	A	A

Tabela 99: Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 1, Endoscopia 2: Atrofia

	Corpo	Antro	<i>Margo plicatus</i>
Número de amostras	7	7	7
Soma do escore	74,50000	86,50000	70,0000
Expectativa sobre H0	77,0	77,0	77,0
Escore médio	10,6428571	12,3571429	10,0000
Teste estatístico	GL		Prob >  Z
Kruskall-Wallis	2		0,7399
	Corpo	Antro	Margo
	A	A	A

Tabela 100: Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 1, Endoscopia 2: Metaplasia

	Corpo	Antro	<i>Margo plicatus</i>
Número de amostras	7	7	7
Soma do escore	70,50000	84,50000	76,0000
Expectativa sobre H0	77,0	77,0	77,0
Escore médio	10,0714286	12,0714286	10,8571429
Teste estatístico	GL		Prob >  Z
Kruskall-Wallis	2		0,8131
	Corpo	Antro	Margo
	A	A	A

Tabela 101: Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 2, Endoscopia 2: Atividade

	Corpo	Antro	<i>Margo plicatus</i>
Número de amostras	10	9	9
Soma do escore	132,50000	108,0000	165,0000
Expectativa sobre H0	145,0000	130,50000	130,50000
Escore médio	13,250000	12,0000	18,3888889
Teste estatístico	GL		Prob >  Z
Kruskall-Wallis	2		0,0318
	Corpo	Antro	Margo
	B	B	A

Tabela 102: Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 2, Endoscopia 2: Inflamação

	Corpo	Antro	<i>Margo plicatus</i>
Número de amostras	10	9	9
Soma do escore	105,0	172,0	129,0
Expectativa sobre H0	145,0000	130,5000	130,50000
Escore médio			
Teste estatístico	GL		Prob >  Z
Kruskall-Wallis	2		0,0391
	Corpo	Antro	Margo
	B	A	B

Tabela 103: Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 2, Endoscopia 2: Atrofia

	Corpo	Antro	<i>Margo plicatus</i>
Número de amostras	10	9	9
Soma do escore	108,0	152,0	146,0
Expectativa sobre H0	145,00000	130,50000	130,50000
Escore médio	10,80000	16,8888889	16,2222222
Teste estatístico	GL		Prob >  Z
Kruskall-Wallis	2		0,1327
	Corpo	Antro	Margo
	A	A	A

Tabela 104: Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 2, Endoscopia 2: Metaplasia

	Corpo	Antro	<i>Margo plicatus</i>
Número de amostras	10	9	9
Soma do escore	174,0000	91,500000	140,50000
Expectativa sobre H0	145,0000	130,50000	130,50000
Escore médio	17,400000	10,1666667	15,611111
Teste estatístico	GL		Prob >  Z
Kruskall-Wallis	2		0,1095
	Corpo	Antro	Margo
	A	A	A

Tabela 105: Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 1, Endoscopia 3: Atividade

	Corpo	Antro	<i>Margo plicatus</i>
Número de amostras	9	9	9
Soma do escore	121,50000	121,50000	135,0000
Expectativa sobre H0	126,0	126,0	126,0
Escore médio	13,50000	13,500000	15,00000
Teste estatístico	GL		Prob >  Z
Kruskall-Wallis	2		0,3679
	Corpo	Antro	Margo
	A	A	A

Tabela 106: Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 1, Endoscopia 3: Inflamação

	Corpo	Antro	<i>Margo plicatus</i>
Número de amostras	100,0000	113,50000	164,50000
Soma do escore	126,0	126,0	126,0
Expectativa sobre H0	18,1722527	18,1722527	18,1722527
Escore médio	11,111111	12,611111	18,2777778
Teste estatístico	GL		Prob >  Z
Kruskall-Wallis	2		0,0967
	Corpo	Antro	Margo
	A	A	A

Tabela 107: Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 1, Endoscopia 3: Atrofia

	Corpo	Antro	<i>Margo plicatus</i>
Número de amostras	9	9	9
Soma do escore	93,50000	171,0000	113,50000
Expectativa sobre H0	126,0	126,0	126,0
Escore médio	10,38888889	19,000000	12,6111111
Teste estatístico	GL		Prob >  Z
Kruskall-Wallis	2		0,0391
	Corpo	Antro	Margo
	B	A	B

Tabela 108: Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 1, Endoscopia 3: Metaplasia

	Corpo	Antro	<i>Margo plicatus</i>
Número de amostras	9	9	9
Soma do escore	121,0000	99,50000	157,50000
Expectativa sobre H0	126,0	126,0	126,0
Escore médio	13,444444	11,0555556	17,5000000
Teste estatístico	GL		Prob >  Z
Kruskall-Wallis	2		0,1875
	Corpo	Antro	Margo
	A	A	A

Tabela 109: Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 2, Endoscopia 3: Atividade

	Corpo	Antro	<i>Margo plicatus</i>
Número de amostras	9	11	11
Soma do escore	150,0	165,0	181,0
Expectativa sobre H0	144,0	176,0	176,0
Escore médio	16,666667	15,000000	16,4545455
Teste estatístico	GL		Prob >  Z
Kruskall-Wallis	2		0,5633
	Corpo	Antro	Margo
	A	A	A

Tabela 110: Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 2, Endoscopia 3: Inflamação

	Corpo	Antro	<i>Margo plicatus</i>
Número de amostras	9	11	11
Soma do escore	137,50000	161,0000	197,50000
Expectativa sobre H0	144,0	176,0	176,0
Escore médio	15,2777778	14,6363636	17,9545455
Teste estatístico	GL		Prob >  Z
Kruskall-Wallis	2		0,6412
	Corpo	Antro	Margo
	A	A	A

Tabela 111: Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 2, Endoscopia 3: Atrofia

	Corpo	Antro	<i>Margo plicatus</i>
Número de amostras	9	11	11
Soma do escore	137,50000	173,0000	185,50000
Expectativa sobre H0	144,0	176,0	176,0
Escore médio	15,2777778	15,7272727	16,8636364
Teste estatístico	GL		Prob >  Z
Kruskall-Wallis	2		0,9120
	Corpo	Antro	Margo
	A	A	A

Tabela 112: Comparação dos escores histológicos, entre regiões, Grupo 2, Endoscopia 3: Metaplasia

	Corpo	Antro	<i>Margo plicatus</i>
Número de amostras	9	11	11
Soma do escore	148,50000	142,50000	205,0000
Expectativa sobre H0	144,0	176,0	176,0
Escore médio	16,50000	12,9545455	18,6363636
Teste estatístico	GL		Prob >  Z
Kruskall-Wallis	2		0,2910
	Corpo	Antro	Margo
	A	A	A

Tabela 113: Comparação dos escores histológicos total , endoscopia 1, entre grupos: Corpo

	Grupo 1	Grupo 2
Número de amostras	7	11
Soma do escore	50,50000	120,0000
Expectativa sobre H0	66,50000	104,50000
Escore médio	7,2142857	10,9545455

Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	50,5000	-1,469394	0,1432

Tabela 114: Comparação dos escores histológicos total , endoscopia 1, entre grupos: Antro

	Grupo 1	Grupo 2
Número de amostras	9	11
Soma do escore	102,50000	107,50000
Expectativa sobre H0	94,50000	115,5000
Escore médio	11,3888889	9,7727273

Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	102,500	0,579019	0,5626

Tabela 115: Comparação dos escores histológicos total , endoscopia 1, entre grupos: *Margo plicatus*

	Grupo 1	Grupo 2
Número de amostras	8	8
Soma do escore	63,0	73,0
Expectativa sobre H0	68,0	68,0
Escore médio	7,8750000	9,1250000

Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	63,0000	-0,479339	0,6317

Tabela 116: Comparação dos escores histológicos total , endoscopia 2, entre grupos: Corpo

	Grupo 1	Grupo 2
Número de amostras	7	10
Soma do escore	59,50000	93,50000
Expectativa sobre H0	63,0	90,0
Escore médio	8,50000	9,35000

Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	59,5000	-0,304166	0,7610

Tabela 117: Comparação dos escores histológicos total , endoscopia 2, entre grupos: Antro

	Grupo 1	Grupo 2
Número de amostras	7	9
Soma do escore	61,0	75,0
Expectativa sobre H0	59,50000	76,50000
Escore médio	8,71428571	8,333333

Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	61,0000	0,108433	0,9137

Tabela 118: Comparação dos escores histológicos total , endoscopia 1, entre grupos: *Margo plicatus*

	Grupo 1	Grupo 2
Número de amostras	7	9
Soma do escore	39,0	97,0
Expectativa sobre H0	59,50000	76,50000
Escore médio	5,5714286	10,7777778

Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	39,0000	-2,22428	0,0261

Tabela 119: Comparação dos escores histológicos total , endoscopia 3, entre grupos: Corpo

	Grupo 1	Grupo 2
Número de amostras	9	9
Soma do escore	67,0	104,0
Expectativa sobre H0	85,50000	85,50000
Escore médio	7,4444444	11,5555556

Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	67,0000	-1,60441	0,1086

Tabela 120: Comparação dos escores histológicos total , endoscopia 3, entre grupos: Antro

	Grupo 1	Grupo 2
Número de amostras	9	11
Soma do escore	89,50000	120,50000
Expectativa sobre H0	94,50000	115,50000
Escore médio	9,944444	10,9545455

Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	89,50000	-0,355508	0,7222

Tabela 121: Comparação dos escores histológicos total , endoscopia 3, entre grupos: *Margo plicatus*

	Grupo 1	Grupo 2
Número de amostras	9	11
Soma do escore	88,0	122,0
Expectativa sobre H0	94,50000	115,50000
Escore médio	9,7777778	11,0909091

Teste estatístico	GL	S	Z	Prob >  Z
Wilcoxon	1	88,0000	-0,468706	0,6393

**CRONOGRAMA DE DESMAME.**

SEQ	Nº	ÉGUA	GARANHÃO	SEXO	DATA REAL DO PARTO	14 DD ANTES	DESMAME 160 dias)	14 DD APÓS
						A	B	C
01	779	Realeza	Dartanhan	F	24/10/03	01Abr <b>01A</b>	15Abr <b>01B</b>	29Abr <b>01C</b>
02	773	Relva	Dartanhan	M	14/11/03	<b>22Abr 02A</b>	06Mai <b>02B</b>	20Mai <b>02C</b>
03	639	Atalaia	Dartanhan	F	18/11/03	22Abr <b>03A</b>	06Mai <b>03B</b>	20Mai <b>03C</b>
04	776	Rendada	Dartanhan	M	19/11/03	29Abr <b>04A</b>	13Mai <b>04B</b>	27Mai <b>04C</b>
05	828	Garça	Dartanhan	F	24/11/03	29Abr <b>05A</b>	13Mai <b>05B</b>	27Mai <b>05C</b>
06	892	Índia	Dartanhan	F	16/12/03	20Mai <b>06A</b>	03Jun <b>06B</b>	17Jun <b>06C</b>
07	742	Flor de Liz	Dartanhan	F	23/12/03	27Mai <b>07A</b>	10Jun <b>07B</b>	24Jun <b>07C</b>
08	765	Florada	Dartanhan	F	23/12/03	27Mai <b>08A</b>	10Jun <b>08B</b>	24Jun <b>08C</b>
09	664	Charme	Dartanhan	F	31/12/03	03Jun <b>09A</b>	17Jun <b>09B</b>	01Jul <b>09C</b>
10	964	Latina	Dartanhan	M	02/01/04	08Jun <b>10A</b>	22Jun <b>10B</b>	06Jul <b>10C</b>
11	743	Fidalga	Símbolo	F	04/01/04	08Jun <b>11A</b>	22Jun <b>11B</b>	06Jul <b>11C</b>
12	746	Esparta		M	04/01/04	08Jun <b>12A</b>	22Jun <b>12B</b>	06Jul <b>12C</b>
13	994	La-Belle	Dartanhan	M	05/01/04	10Jun <b>13A</b>	24Jun <b>13B</b>	08Jul <b>13C</b>
14	993	Luana	Dartanhan	F	16/01/04	22Jun <b>14A</b>	06Jul <b>14B</b>	20Jul <b>14C</b>
15	829	Guaira	Dartanhan	M	18/01/04	24Jun <b>15A</b>	08Jul <b>15B</b>	22Jul <b>15C</b>
16	775	Revista	Dartanhan	F	25/01/04	01Jul <b>16A</b>	15Jul <b>16B</b>	29Jul <b>16C</b>
17	866	Heureka	Dartanhan	F	10/02/04	15Jul <b>17A</b>	29Jul <b>17B</b>	12Ago <b>17C</b>
18	864	Hansa		F	12/02/04	22Jul <b>18A</b>	05Ago <b>18B</b>	19Ago <b>18C</b>
19	778	Regata	Dartanhan	M	25/02/04	05Ago <b>19A</b>	19Ago <b>19B</b>	02Set <b>19C</b>
20	917	Alma	Dartanhan	M	01/03/04	05Ago <b>20A</b>	19Ago <b>20B</b>	02Set <b>20C</b>

**CRONOGRAMA DE ENDOSCOPIAS.**

ABRIL	MAIO	JUNHO	JULHO	AGOSTO/SET	POTRO (A) DA			
Abr <b>01A</b>	06Mai <b>02B</b>	03Jun <b>09A</b>	01Jul <b>16A</b>	05Ago <b>18B</b>	01	Realeza	779	F
15Abr <b>01B</b>	06Mai <b>03B</b>	03Jun <b>06B</b>	01Jul <b>09C</b>	05Ago <b>19A</b>	02	Relva	773	M
22Abr <b>02A</b>	13Mai <b>04B</b>	08Jun <b>10A</b>	06Jul <b>14B</b>	05Ago <b>20A</b>	03	Atalaia	639	F
22Abr <b>03A</b>	13Mai <b>05B</b>	08Jun <b>11A</b>	06Jul <b>10C</b>	12Ago <b>17C</b>	04	Rendada	776	M
29Abr <b>01C</b>	20Mai <b>06A</b>	08Jun <b>12A</b>	06Jul <b>11C</b>	19Ago <b>18C</b>	05	Garça	828	F
29Abr <b>04A</b>	20Mai <b>02C</b>	10Jun <b>07B</b>	06Jul <b>12C</b>	19Ago <b>19B</b>	06	Índia	892	F
29Abr <b>05A</b>	20Mai <b>03C</b>	10Jun <b>08B</b>	08Jul <b>15B</b>	19Ago <b>20B</b>	07	Flor de Liz	742	F
	27Mai <b>04C</b>	10Jun <b>13A</b>	08Jul <b>13C</b>	02Set <b>19C</b>	08	Florada	765	F
	27Mai <b>05C</b>	17Jun <b>06C</b>	15Jul <b>16B</b>	02Set <b>20C</b>	09	Charme	664	F
	27Mai <b>08A</b>	17Jun <b>09B</b>	15Jul <b>17A</b>		10	Latina	964	M
	27Mai <b>07A</b>	22Jun <b>14A</b>	20Jul <b>14C</b>		11	Fidalga	743	F
		22Jun <b>10B</b>	22Jul <b>18A</b>		12	Esparta	746	M
		22Jun <b>11B</b>	22Jul <b>15C</b>		13	La-Belle	994	M
		22Jun <b>12B</b>	29Jul <b>16C</b>		14	Luana	993	F
		24Jun <b>15A</b>	29Jul <b>17B</b>		15	Guaira	829	M
		24Jun <b>13B</b>			16	Revista	775	F
		24Jun <b>07C</b>			17	Heureka	866	F
		24Jun <b>08C</b>			18	Hansa	864	F
					19	Regata	778	M
					20	Alma	917	M

**CRONOGRAMA DE TRANSPORTE DE POTROS/ÉGUAS DE FLORESTAL PARA O RCAT E ESCOLA DE VETERINÁRIA.**

MARÇO/ABRIL	MAIO	JUNHO	JULHO	AGOSTO/SET	Petro(a) da			
31Mar <b>01A</b>	06Mai <b>02B</b> 06Mai <b>03B</b>	02Jun <b>09A</b> 03Jun <b>06B</b>	01Jul <b>09C</b>	04Ago <b>19A</b> 04Ago <b>20A</b>	01	Realeza	779	F
15Abr <b>01B</b>	13Mai <b>04B</b> 13Mai <b>05B</b>	07Jun <b>10A</b> 07Jun <b>11A</b> 07Jun <b>12A</b>	06Jul <b>14B</b> 06Jul <b>10C</b> 06Jul <b>11C</b> 06Jul <b>12C</b>	05Ago <b>18B</b> 12Ago <b>17C</b>	2	Relva	773	M
21Abr <b>02A</b> 21Abr <b>03A</b>	19Mai <b>06<sup>a</sup></b>	09Jun <b>13A</b>	08Jul <b>15B</b> 08Jul <b>13C</b>	19Ago <b>18C</b> 19Ago <b>19B</b> 19Ago <b>20B</b>	03	Atalaia	639	F
28Abr <b>04A</b> 28Mai <b>05A</b>	20Mai <b>02C</b> 20Mai <b>03C</b>	10Jun <b>08B</b> 10Jun <b>07B</b>	14Jul <b>17A</b>	02Set <b>19C</b> 02Set <b>20C</b>	04	Rendada	776	M
29Abr <b>01C</b>	26Mai <b>07A</b> 26Mai <b>08A</b>	17Jun <b>06C</b> 17Jun <b>09B</b>	15Jul <b>16B</b>		05	Índia	892	F
	27Mai <b>04C</b> 27Mai <b>05C</b>	21Jun <b>14<sup>a</sup></b>	20Jul <b>14C</b>		06	Garça	828	F
		22Jun <b>10B</b> 22Jun <b>11B</b> 22Jun <b>12B</b>	21Jul <b>18A</b>		07	Flor de Liz	742	F
		23Jun <b>15A</b>	22Jul <b>15C</b>		08	Florada	765	F
		24Jun <b>13B</b> 24Jun <b>07C</b> 24Jun <b>08C</b>	29Jul <b>16C</b> 29Jul <b>17B</b>		09	Charme	664	F
		30Jun <b>16A</b>			10	Latina	964	M
					11	Fidalga	743	F
					12	Esparta	746	M
					13	La-Belle	994	M
					14	Luana	993	F
					15	Guaíra	829	M
					16	Revista	775	F
					17	Heureka	866	F
					18	Hansa	864	F
					19	Regata	778	M
					20	Alma	917	M

**Em vermelho: POTRO + ÉGUA, Pela manhã,** de Florestal para a Sede e no dia seguinte para Escola de Veterinária. Voltar para o 3º Esq.

**Em azul: SÓ O POTRO** Buscar no 3º Esq e levar para EV. Retornar para o 3º Esq.

**Em verde: SÓ O POTRO** Buscar no 3º Esq e levar para EV. Retornar para o 3º Esq.