

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU**

**AVALIAÇÃO BIOQUÍMICA EM SANGUE DA JUGULAR, DA
CARÓTIDA E FLUÍDO CEREBROESPINHAL DE CORDEIROS
NEONATOS**

MIRELA RIBEIRO VERDUGO

Botucatu – SP

2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

**AVALIAÇÃO BIOQUÍMICA EM SANGUE DA JUGULAR, DA
CARÓTIDA E FLUÍDO CÉREBROESPINHAL DE CORDEIROS
NEONATOS**

MIRELA RIBEIRO VERDUGO

Tese apresentada junto ao Programa de
Pós-Graduação em Medicina Veterinária
para obtenção do título de Doutora.

Orientador: Prof. Assistente Doutor Simone Biagio Chiacchio

Co-orientadora: Prof^a. Assistente Doutora Maria Lucia Gomes Lourenço

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Verdugo, Mirela Ribeiro.

Avaliação bioquímica em sangue da jugular, da carótida e fluido cerebrospinal de cordeiros neonatos / Mirela Ribeiro Verdugo. - Botucatu, 2016

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Simone Biagio Chiacchio

Coorientador: Maria Lucia Gomes Lourenço

Capes: 50501062

1. Neonatologia veterinária. 2. Ovino. 3. Lactatos. 4. Líquido cefalorraquidiano. 5. Glicose. 6. Sangue - Análise e química.

Palavras-chave: Glicose; Lactato; Metabolismo cerebral; Neonatologia.]

MIRELA RIBEIRO VERDUGO

Título: Avaliação bioquímica em sangue da jugular, da carótida e fluido cerebrospinal de cordeiros neonatos.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Ass. Dr. Simone Biagio Chiacchio
Presidente e Orientador – Departamento de Clínica Veterinária
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP – Botucatu

Prof. Adj. Raimundo Souza Lopes
Membro Titular: Departamento de Clínica Veterinária
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP – Botucatu

Dra. Leila Sabrina Ullmann
Pós doutoranda IBTEC – IBB – UNESP - Botucatu

Prof^a Adj. Regina Kiomi Takahira
Membra Titular: Departamento de Clínica Veterinária
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP – Botucatu

Dr. Ivan Roque de Barros Filho
Membro Titular: Departamento de Clínica Veterinária
Universidade Federal do Paraná – Curitiba

DEDICATÓRIA

Que honrada oportunidade é essa, de oferecer o nosso trabalho a quem nos encaminhou pela vida com muito amor, e nos deu coragem para viver ousadamente! Aos meus amados pais, Deoclecio e Eunice, lhes dedico esse trabalho. As melhores palavras não estão sobre papéis, jamais.

À minha maior motivação para perseguir a excelência na belíssima profissão de Médica Veterinária, meus animais.

"Parce que c'était lui. Parce que c'était moi."

Montaigne

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço aos meus pais por todas as oportunidades generosamente oferecidas para que eu estudasse. Estudar, e muito, sempre foi a máxima da educação dispensada em minha casa, e em seguida vinha o trabalho. Meus pais são representantes de uma das últimas gerações em que o caráter era moldado no trabalho, e essa influência só me fez alguém melhor e mais forte. Agradeço também a paciência, e a ajuda franca, até com as tarefas de casa, e com meus bichinhos, quando eu estava debruçada sobre muitas atividades. Se existem pais melhores no mundo, eu desconheço. Amo vocês!

Especialmente ao meu pai, agradeço por sempre ter se esforçado para que eu me interessasse pelas informações claras, íntegras e esclarecedoras. Ele talvez nem saiba, mas seria um excelente pesquisador, tanto pela meticulosidade, quanto pela ética e bondade.

Especialmente à minha mãe, pelo exemplo diário, visto que foi ela mesma alguém que mudou o seu futuro, e o construiu da forma que quis, sob os valores inatacáveis da honestidade e espontaneidade. E trabalho, muito trabalho.

Quem tem sorte, tem família que nem a minha!

Tio Dado, por me ensinar desde pequena a gostar de literatura e de artes, por ser minha referência para discutir política e humanidades, por ser aquele que todos os dias acorda querendo fazer melhor aquilo que já sabia fazer bem.

Tia Lena, que cuidou de mim como uma outra mãe, e é a doçura em forma de gente, e também em forma de açúcar, bolo, bombas e queijadinha.

Tia Lu, que partilha comigo o sonho de ver cada dia mais do mundo, que tem paciência para ler artigos e ouvir aulas dos nossos historiadores e filósofos favoritos, e cantar as músicas mais velhas que vierem à cabeça. E também

partilha a Cris, já que eu sempre quis ter uma irmã pra bater perna e arrumar o cabelo.

Aos meus quatro avós, Adelina (in memorian), João (in memorian), Teresinha (in memorian) e Zico (in memorian). Algo me diz que, se vocês estivessem aqui, essa ocasião, em 12 de agosto, seria motivo de reunião familiar e festa!

Agradeço por ter, durante a minha caminhada pela vida, colecionado alguns excelentes amigos, desde os de infância, faculdade, trabalho, viagens, alunos e professores, chefes e estagiários. Aqui, não corro o risco de listá-los: são muitos, e as normas de confecção da tese dizem que tenho que fazer agradecimentos concisos. Salva pelo gongo.

Agradeço por ter tido tantos mestres excelentes, e alguns deles, extremamente especiais.

Ao meu orientador e amigo Simone Biagio Chiacchio, aprendi muito contigo, desde os primeiros dias como aluna dessa casa, em 2003. Aprendi ciência e arte, aprendi a trabalhar duro e a relaxar quando posso. Aprendi que coração grande abriga um monte de orientadas, que são, simplesmente, suas fãs.

À minha orientadora Maria Lucia Gomes Lourenço, uma dessas raras pessoas que compram os desafios e conquistas das pessoas ao redor, e tantos exemplos me deu, neném a neném, nesses anos.

Ao meu professor e amigo Antônio Carlos Paes, que acreditou em mim quando eu era uma caloura perdida no Hospital Veterinário, que me ensinou desde uma auscultação ao exame neurológico, e me apresentou a esse mundo de tratos e vias, e a quem eu tenho profunda admiração.

Agradeço à Faculdade de Medicina Veterinária da UNIMAR, pela acolhida, os animais desse experimento, e por tudo o que aprendi com vocês.

Agradeço à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP – Botucatu, por ter sido a minha casa nesses últimos 13 anos, e abrir todas as portas necessárias para a evolução como profissional.

Agradecimento muito especial ao Laboratório de Patologia Clínica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP – Botucatu, seus residentes, funcionários, estagiários e docentes, em especial a Professora Regina Takahira, por me ensinar tudo o que conheço sobre fluido cerebrospinal, e por realizar as análises das amostras, dispensando muito tempo e carinho no processo.

Aos animais: os meus, os pacientes, os participantes desse estudo, os sem dono, os felizes, os que sofrem, os pequenos, os grandes, os selvagens. Agradeço a oportunidade de ter olhado nos olhos de cada um de vocês até aqui, e a graça que é ser Médica Veterinária, e ter conhecimento e vontade de aliviar um sofrimento, tirar uma dor, confortar. Agradeço a oportunidade de servi-los! Todas as etapas, até aqui, têm seus nomes

“Se eu gosto de poesia? Gosto de gente, bichos, plantas, lugares, chocolate, vinho, papos amenos, amizade, amor. Acho que a poesia está contida nisso tudo.”

Carlos Drummond de Andrade

Above all, I have been a sentient being, a thinking animal, on this beautiful planet, and that in itself has been an enormous privilege and adventure.

Oliver Sacks

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Gráfico 1: Dinâmica da concentração de glicose entre as três amostras estudadas, sangue de carótida sangue de jugular e fluido cerebrospinal no momento 2.....41

Gráfico 2: Variável Glicose em sangue da artéria carótida.....42

Gráfico 3: Variável Glicose em fluido cerebrospinal.....43

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Cabanha UNIMAR - Fazenda Experimental “Marcelo Mesquita Serva” – Local de Experimentação.....	31
Figura 2: Lote de ovelhas prenhes.....	32
Figura 3: Ovelhas e cordeiros ao pé.....	33
Figura 4: Cordeiro Monitorado.....	34
Figura 5: Tricotomia da região Atlanto-occipital.....	35
Figura 6: Colheita de Fluido Cerebroespinal.....	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Número de observações (n), Mediana, Mínimo e Máximo para cada variável nos dois momentos estudados, valores P do teste de Wilcoxon para a comparação entre os momentos.....	40
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS

ATP	Adenosina Trifosfato
BHE	Barreira Hematoencefálica
CK	Creatinaquinase
CAR-CK	Aferição da creatinaquinase em sangue colhido da artéria carótida
CAR-GLIC	Aferição de glicose obtida do sangue colhido da artéria carótida
CAR-LAC	Aferição do lactato obtido sangue colhido da artéria carótida
CAR-LDH	Aferição da lactato desidrogenase no sangue colhido da artéria carótida
FCE	Fluido Cerebroespinal
FCE-CK	Aferição da creatinaquinase obtida do fluido cerebroespinal
FCE-GLIC	Aferição da glicose obtida do fluido cerebroespinal
FCE-LAC	Aferição do lactato obtido do fluido cerebroespinal
FCE-LDH	Aferição da lactato desidrogenase obtida do fluido cerebroespinal
JUG-CK	Aferição da creatinaquinase em sangue colhido da veia jugular
JUG-GLIC	Aferição da glicose obtida do sangue colhido da veia jugular
JUG-LAC	Aferição do lactato obtido do sangue colhido da veia jugular
JUG-LDH	Aferição da lactato desidrogenase obtida do sangue da veia jugular
LDH	Lactato desidrogenase
M1	Momento 1
M2	Momento 2
U	Unidade internacional = 1 micromol/min/L ou $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{L}$

SUMÁRIO

RESUMO.....	14
ABSTRACT.....	15
HIPÓTESES.....	16
1. REVISÃO DE LITERATURA.....	17
1.1. Introdução.....	17
1.2. Metabolismo de glicose e lactato sistêmicos do neonato.....	19
1.3. Metabolismo cerebral de lactato e glicose.....	22
1.3.1. Glicose.....	23
1.3.2. Lactato.....	25
1.4. Metabolismo cerebral enzimático.....	26
1.4.1. Lactato Desidrogenase.....	26
1.4.2. Creatinaquinase.....	28
2. OBJETIVO.....	30
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	31
3.1. Local de experimentação.....	31
3.2. Animais.....	32
3.3. Cuidados com os neonatos e avaliação cardíaca.....	33
3.4. Momentos do Estudo.....	34
3.5. Colheita das amostras.....	35
3.6. Colheitas.....	35
3.6.1. Lactato.....	35
3.6.2. Glicose.....	36
3.7. Análise química da creatinaquinase e lactato desidrogenase.....	38
3.8. Análise Estatística.....	38
4. RESULTADOS.....	39
5. DISCUSSÃO.....	44
6. CONCLUSÕES.....	47
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49

VERDUGO, M.V. Avaliação bioquímica em sangue da jugular, da carótida e fluido cerebrospinal de cordeiros neonatos. Botucatu, 2016. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” – Campus de Botucatu.

RESUMO

A neonatologia é uma especialidade ainda em expansão dentro da Medicina Veterinária, onde os estudos têm se concentrado principalmente na viabilidade neonatal e estabelecimento do prognóstico. Ainda existem poucos estudos dos neonatos da espécie ovina, onde se faz necessário estabelecer alguns padrões de normalidade para a espécie. Em ovinos a utilização do lactato tem se concentrado na obstetrícia e neonatologia, muitas vezes utilizando a espécie como modelo experimental para humanos, em mensurações placentárias, por exemplo. O presente estudo objetivou a descrição das concentrações de glicose, lactato, creatinaquinase e lactato desidrogenase em sangue carotídeo, sangue jugular e fluido cerebrospinal em ovinos neonatos hípidos. Foram utilizados 15 cordeiros hípidos, e foram colhidas amostras de sangue da veia jugular, sangue da artéria carótida e fluido cerebrospinal às 24 horas, e aos 14 dias de vida. Entre momentos, foi encontrada diferença entre as variáveis glicose da carótida e glicose no fluido cerebrospinal, sugerindo que os animais aos 14 dias possuem mecanismos de metabolismo energético mais amadurecido, mantendo mais constantes essas variáveis.

Palavras-chave: Lactato, glicose, neonatologia, metabolismo cerebral, creatinaquinase, lactato desidrogenase

VERDUGO, M.V. Biochemical assessment of carotid and jugular blood, and cerebrospinal fluido of newborn lamb. Botucatu, 2016. Doctoral Thesis - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” – Campus Botucatu.

ABSTRACT

Neonatology is an expanding specialty in Veterinary Medicine, and the research articles are generally about neonatal viability and determination of prognosis. There is a few studies in lamb, and it's still necessary to establish normal standards to the ovine species. In those, lactate evaluation has been used for obstetrics and neonatology, and sometimes like experimental model for human medicine. This study aimed to describe the lactate, glucosis, creatine kinase and lactate dehydrogenase concentrations at carotid and jugular blood, and cerebrospinal fluid of healthy lamb. 15 clinacally normal lambs were used, and the samples were obtained at 24 hours after birth, and then 14 days after birth. Differences were found in the variables glucosis at carotid, and glucosis at cerebrospinal fluid, at 24 hours and 14 days, suggesting that the 14 days old animals have more matured energetic metabolism mechanism, and more stable variables.

Key-words: lactate, glucosis, neonatology, cerebral metabolism, creatine kuinase, lactate dehydrogenase

HIPÓTESES

- A) O encéfalo dos neonatos ovinos consome glicose; por esse motivo, hipoteticamente, os valores médios da concentração de glicose no sangue da artéria carótida são maiores do que no sangue da veia jugular.
- B) O encéfalo dos neonatos ovinos consome lactato; por esse motivo, hipoteticamente, os valores médios da concentração de lactato no sangue da artéria carótida são maiores do que no sangue da veia jugular.
- C) O encéfalo dos neonatos ovinos produz lactato; por esse motivo, hipoteticamente, os valores médios da concentração de lactato no sangue da artéria carótida são menores do que no sangue da veia jugular.
- D) As aferições de lactato no neonato de 24 horas de vida são maiores que no neonato com 14 dias

1. REVISÃO DA LITERATURA

1.1. Introdução

A Neonatologia Veterinária é uma área ainda em expansão (CRESPILHO et al., 2007; CRISSIUMA et al., 2006) e a investigação da vitalidade neonatal é realizada experimentalmente por meio da avaliação do equilíbrio ácido-base e eletrolítico, avaliação de parâmetros vitais, como o escore de Apgar, e a avaliação neurológica (CRISSIUMA et al., 2006; GABAS et al., 2006; LAVOR et al., 2004).

O período neonatal caracteriza-se por uma fase de adaptação fisiológica e metabólica, onde os sistemas orgânicos precisam atender aos novos desafios da vida extra-uterina (ROSSDALE, 2004). Após o nascimento, o neonato passa de um ambiente uterino extremamente favorável, para um ambiente hostil, com predadores e variações bruscas de temperatura (RIZZONI; MIYAUCHI, 2012).

A adaptação à vida extra-uterina, ou transição feto-neonatal, é um processo biológico complexo que envolve modificações funcionais em todos os órgãos e sistemas do recém-nascido, permitindo sua sobrevivência, uma vez separado da unidade materna útero-placentária. Os aspectos mais importantes da transição feto-neonatal são: a expansão pulmonar para a realização das trocas gasosas; o estabelecimento de uma circulação estável e similar a de um adulto; manutenção da temperatura corporal e por fim, a adaptação metabólica à vida extra-uterina (TEIXEIRA et al., 2007).

As principais causas de mortalidade dos neonatos ovinos são o complexo inanição/hipotermia/hipoglicemia, distocias, malformações e a predação por cães e animais silvestres. O complexo inanição/hipotermia/hipoglicemia ocorre quando o cordeiro não tem reservas energéticas suficientes para manter sua temperatura corporal. Esse fato se dá principalmente devido a condições climáticas adversas e baixo peso ao nascimento (NÓBREGA JR et al., 2005). Em estudo realizado com cordeiros, Miller et al. (2009) observaram menores concentrações de glicose em neonatos com peso inferior a 3,25 kg ou temperatura retal superior a 35,4°C, correlacionando a junção desses fatores à maior taxa de mortalidade após 72 horas pós-natal.

A interpretação de parâmetros bioquímicos em animais jovens tem sido baseada, em grande parte, em valores de referência tabelados para animais adultos. O uso de valores de referência, de equinos adultos, para interpretar resultados de potros neonatos, é questionável. Ocorrem várias alterações na fisiologia do neonato, como a adaptação ao ambiente extra-uterino, e desenvolvimento subsequente. Embora, após o nascimento, ocorra um rápido ajustamento ambiental, um período de transição mais lento caracteriza muitos aspectos da adaptação fisiológica e bioquímica. Os parâmetros bioquímicos e hematológicos passam por mudanças significativas a partir do nascimento, do período neonatal até a idade adulta (MESSER, 1995)

O conhecimento da fisiologia, a avaliação do vigor do neonato e uma rápida intervenção, no que diz respeito à reanimação, são essenciais para a diminuição da mortalidade neonatal (LOURENÇO; MACHADO, 2013).

Na Medicina Veterinária, várias pesquisas vêm sendo realizadas em diferentes áreas com a utilização do lactato como indicador de hipoperfusão tecidual e fator prognóstico, desde estudos avaliando níveis de hipoperfusão em diferentes tipos de anestesia em cães (BELETTINI et al., 2008; FLORIANO et al., 2010), a estudos direcionados diretamente à neonatologia e influência da cesariana nas concentrações de lactato (VIVAN et al., 2009). Em ovinos a utilização do lactato tem se concentrado na obstetrícia e neonatologia, muitas vezes utilizando a espécie como modelo experimental para humanos, por exemplo, em mensurações placentárias. (SPARKS et al., 1983; THORNGREN-JERNECK et al., 2001).

O lactato, proveniente do metabolismo de carboidratos é produzido constantemente no organismo. Origina-se do piruvato, composto produzido durante a glicólise anaeróbica (KRUSE; CARLSON, 1987).

Em condições de hipóxia, o piruvato é preferencialmente reduzido a lactato e a relação entre o lactato e o piruvato se eleva. O lactato é produzido em todos os tecidos. Entretanto, músculos, cérebro, hemácias e medula renal são responsáveis pela produção da maior parte do lactato do organismo (SOUZA e ELIAS, 2006).

Tal comportamento metabólico confere ao lactato o título de marcador de perfusão tecidual, porém, muitas são as situações em que seus valores estão elevados e dissociados da hipoperfusão tecidual (SILVA et al., 2001).

Disfunções envolvendo o sistema nervoso são de grande importância na clínica de animais domésticos, pois, além da elevada ocorrência, poucos são os subsídios auxiliares no diagnóstico, prognóstico e avaliação das terapias empregadas. A avaliação do fluido cerebrospinal (FCE) é uma das alternativas de acesso clínico ao sistema nervoso central (FELDMAN, 1989).

O fluido cerebrospinal é uma substância metabolicamente ativa, que possui muitas funções importantes. A análise dessa substância é imprescindível para o diagnóstico de doenças inflamatórias, sejam elas infecciosas ou não, que envolvam o encéfalo, medula espinhal e meninges. O FCE pode ser colhido facilmente através de punção do espaço sub-aracnóideo lombar (DEISENHAMMER et al., 2006) ou da cisterna magna (NORSWORTHY et al., 2004).

Na espécie humana, as diferenças entre a composição do FCE do recém-nascido e do adulto normais tem sido atribuídas especialmente à imaturidade da barreira hematoencefálica (BHE) por ocasião do nascimento, desde os primeiros estudos sobre o assunto (WAITZ, 1928).

A presença de hemácias, a xantocromia e a elevada concentração proteica tem sido os principais aspectos da composição do FCE destacados nesse sentido, tanto em recém-nascidos à termo como pré-termo (GLASER, 1928). Não se afastam dessa linha de considerações os principais estudos sobre o FCE feitos posteriormente (BAUER et al, 1965).

1.1. Metabolismo de glicose e lactato sistêmicos do neonato

A glicose é utilizada como a principal fonte energética orgânica, sendo em alguns tecidos, a única fonte de energia metabólica. A glicólise aeróbica normalmente ocorre na mitocôndria e, quando o metabolismo está aumentado ou esta via sobrecarregada, não sendo capaz de suprir as demandas energéticas, o metabolismo anaeróbico é ativado. A glicólise anaeróbia ocorre na ausência de oxigênio utilizando a glicose para produção do lactato (BARROSO et al., 2006).

Segundo Brolio *et al.*, (2010), a glicose é o principal substrato de energia para o metabolismo fetal e placentário em todas as espécies mamíferas estudadas. Análises da cinética do transporte placentário de glicose *in vivo* indicaram que este processo é alcançado por difusão facilitada, mediada por membros da família de proteínas transportadoras de glicose.

Medições das diferenças de concentração arteriovenosa por meio das circulações uterina e umbilical têm mostrado que a placenta capta glicose do sangue materno e a libera na circulação umbilical. A quantidade de glicose distribuída na circulação umbilical é menor que a quantidade absorvida da circulação uterina; isto reflete o fato de a placenta usar a glicose como um combustível metabólico. O requisito por glicose da unidade fetoplacentária pode representar até 70% do metabolismo de glicose de ovelhas gestantes, muito disto utilizado pela placenta. O resto vai para o feto, no qual apenas 46% das necessidades energéticas fetais são satisfeitas por glicose, com 25% do catabolismo de aminoácidos e 20% de lactato; uma pequena fração também é proveniente de alanina. Enzimas gliconeogênicas no fígado de fetos ovinos permitem a estes dois últimos substratos gerar glicose adicional, embora existam relatos de que isso só ocorra quando a hipoglicemia fetal é induzida por jejum materno (BROLIO *et al.*, 2010).

No feto humano, os níveis de glicose correspondem a 60 a 70% dos níveis maternos, havendo correlação linear entre esses níveis, seja em situações de normo, hipo ou hiperglicemia. A glicemia do neonato declina nas primeiras horas de vida e se eleva em até seis horas nos neonatos saudáveis. O recém-nascido a termo tem reservas adequadas de glicose, enquanto que o prematuro e o de baixo peso não, devido à falta de tempo para acumular reservas e pelas situações de agressão sofridas, respectivamente (ANDRADE, 2002).

Em humanos, a glicemia em neonatos saudáveis, declina nas primeiras seis horas de vida elevando-se nas seis horas subsequentes (ANDRADE, 2002). A glicemia em bezerros logo ao nascimento, na ausência de ingestão de colostro, relaciona-se ao metabolismo hepático e do glicogênio muscular, os quais respondem principalmente à ação de catecolaminas, como a noradrenalina e adrenalina (CHAN *et al.*, 1993).

O lactato, proveniente do metabolismo de carboidratos é produzido constantemente no organismo. Origina-se do piruvato, composto produzido durante a glicólise anaeróbica. Em sua grande maioria, o piruvato é utilizado pela mitocôndria para a produção de 36 moléculas de ATP, gás carbônico e água, durante a glicólise aeróbica. Na glicólise anaeróbica, uma parcela menor de glicose é utilizada no citoplasma celular para a produção de duas moléculas de ATP, lactato e íons hidrogênio (KRUSE; CARLSON, 1987).

Em algumas condições, o metabolismo celular se altera, dependendo, sobretudo, da via anaeróbica de utilização do piruvato. A principal causa desta alteração é o desequilíbrio entre a disponibilidade e consumo de oxigênio, e nesta situação, o metabolismo celular continua com a utilização da glicose sem a necessidade de oxigênio. O piruvato será, então, convertido preferencialmente a lactato, garantindo a produção, embora menor, de energia (KRUSE; CARLSON, 1987).

Apesar da produção de ATP ser bem menor na glicólise anaeróbica (dois ATPs) em relação à glicólise aeróbica (36 ou 38 ATP), esse mecanismo pode ser capaz de suplementar energia quando o metabolismo está aumentado, excedendo a capacidade aeróbica normal de produção energética. Além disso, a glicólise anaeróbica pode ser um mecanismo capaz de manter a vida em pacientes críticos cuja disponibilidade de oxigênio está diminuída. Nestes casos, a ativação da glicólise anaeróbica produz lactato em excesso. Este fenômeno é denominado hiperlactatemia e, quando encontrado no paciente crítico, é indicativo de hipoperfusão tecidual (BARROSO et al., 2006). Portanto, a produção de lactato permite a sobrevivência celular temporária em situações de hipóxia (SILVA et al., 2001).

A relação normal entre o lactato e o piruvato é de aproximadamente 20:1. Em condições de hipóxia, o piruvato é preferencialmente reduzido a lactato e a relação entre o lactato e o piruvato se eleva. O lactato é produzido em todos os tecidos. Entretanto, músculos, cérebro, hemácias e medula renal são responsáveis pela produção da maior parte do lactato do organismo (SOUZA e ELIAS, 2006).

Tal comportamento metabólico confere ao lactato o título de marcador de perfusão tecidual, porém, muitas são as situações em que seus valores estão elevados e dissociados da hipoperfusão tecidual (SILVA et al., 2001).

Os hidratos de carbono constituem a maior fonte de energia do feto, porém aminoácidos, ácidos graxos e corpos cetônicos também podem ser utilizados, sendo transportados pela placenta por difusão facilitada. Somente 40 a 50% do total de glicose transportada pela placenta chegam ao feto, pois o restante é utilizado por esse órgão, bastante ativo em processos de oxidação, deposição de glicogênio e produção de lactato, que serão utilizados tanto pela mãe quanto pelo feto (ANDRADE, 2002).

Estudos demonstram também que a lactatemia fetal é maior do que a materna durante a gestação (MARCONI et al., 1990).

A concentração de lactato sanguíneo é um indicador prognóstico em humanos e animais e numerosos estudos tem associado a hiperlactatemia a pacientes de alto risco de morte. O grau e a duração da hiperlactatemia também foram correlacionados com o subsequente desenvolvimento de falência dos órgãos (CASTAGNETTI, 2009).

O lactato desempenha um papel central na obstetrícia humana como um marcador de angústia fetal e neonatal (ARMSTRONG et al., 2006; BLICKSTEIN, 2007), além de ser um dos principais componentes da acidose metabólica (BORRUTO et al., 2008). Quando o suprimento de oxigênio para o feto é interrompido, os ácidos começam a se acumular e ocorre acidemia (BLICKSTEIN, 2007).

1.2. Metabolismo cerebral de lactato e glicose

Diferentemente dos demais órgãos, a perfusão do tecido encefálico, com sangue rico em nutrientes, não significa suprimento adequado, pois a BHE facilita ou retarda seletivamente a passagem de nutrientes da circulação sistêmica para o encéfalo. Dentre os vários processos que norteiam a passagem de substâncias pela BHE, a difusão simples é a mais importante, sua efetividade

variando com o grau de lipossolubilidade do soluto e com a habilidade deste em se dissolver na membrana endotelial (PARDRIDGE, 1977).

1.2.1. Glicose

Em humanos, a distribuição e o metabolismo da glicose sistêmica em condições basais, fisiológicas em indivíduos normais é característica. Na ausência de cetose (jejum, diabetes e ingestão de etanol), a glicose é o único substrato utilizado pelo encéfalo na manutenção de suas funções, essenciais para a existência do indivíduo (SIESJÖ, 1984).

O consumo cerebral de glicose é calculado em 150 g/dia, correspondendo a cerca de 2/3 da produção hepática nos humanos adultos (SOKOLOFF, 1960).

A metabolização cerebral deste substrato é essencialmente aeróbica, na base de 31mM de glicose por 156mM de O₂, com liberação de 156 mM de CO₂ por mg de tecido por minuto, resultando em quociente respiratório próximo da unidade. Para este consumo de glicose foi verificado que apenas 26 mM/100g/min são oxidados, sendo que o destino do restante permanece indefinido, especulando-se que seja utilizado na formação de compostos intermediários como o lactato e piruvato, ou na síntese de outras substâncias, como os neurotransmissores (ACKERMANN et al., 1981; GIBSON, 1975).

A captação de glicose pela célula cerebral ocorre por processo independente da insulina, sendo imediatamente fosforilada no carbono 6, formando a glicose-6-fosfato (G-6-P). Uma vez fosforilada, a glicose é metabolizada preferencialmente (cerca de 90%) a piruvato e, deste, a CO₂ e H₂O. Há evidências de que a formação de glicogênio pela célula nervosa seja negligível e que apenas 1% da glicose seria metabolizada no *shunt* das pentoses. A fosfofrutoquinase é considerada a principal enzima reguladora da glicólise cerebral. Em tecidos musculares, hepático e renal, esta enzima é ativada pelo AMP, Pi e frutose 1,2 bifosfato e inibida pelos níveis de ATP e citrato. A metabolização anaeróbica da glicose a lactato produz, no máximo, 47-52Cal/mol, enquanto sua metabolização oxidativa, a CO₂ e H₂O, produz

aproximadamente 690Cal/mol (equivalente a 38 ATP). A eficiência do processo glicolítico, na geração de energia, é cerca de 40% (YOSHIDA, 1986).

Além de situações em que ocorre compensação adequada, como no jejum prolongado e *stress* moderado, insultos como a anóxia ou hipoglicemia limitam o metabolismo encefálico, com instalação rápida de falência energética e lesão por vezes irreversível. A maior parte da glicose captada por mecanismos de transporte insulino-independentes, em situações de euglicemia, ocorre no sistema nervoso central. Em situações de hiperglicemia, ocorre aumento na disposição de glicose no músculo esquelético e não no SNC, pois a captação de glicose encefálica é saturada, em seus níveis fisiológicos (BARON et al., 1988).

Existem evidências suficientes para afirmar que porção considerável da energia cerebral (maior que 50%) é utilizada no transporte iônico, mediado pela Na + K + ATPase . As células gliais também utilizam energia, assim como a energia é igualmente empregada no metabolismo estrutural das células nervosas (YAROWSKY, 1981).

Sokoloff (1992) cita os achados de inúmeros laboratórios, ao longo deste século, que demonstram que o consumo médio de glicose guarda relação estequiométrica com a utilização de O₂, isto é, 5 a 6 mol de O₂ são consumidos por mol de glicose utilizada. Somente 20% da glicose incorporada consumida é responsável pelo consumo de O₂, sugerindo que a taxa de glicólise seja 20% maior que as taxas de oxidação dos produtos da glicólise. Parte deste excesso de consumo da glicose é indubitavelmente devido à perda de alguns dos inúmeros metabolitos intermediários entre glicose e o ciclo do ácido tricarbóxico, na formação de CO₂ e H₂O, onde o O₂ é utilizado juntamente com o lactato, piruvato e possivelmente citrato, como também na incorporação de carbonos derivados da glicose em outros elementos do encéfalo como acetilcolina, lípidos, fosfolípidos, aminoácidos, proteínas, ácido nucleicos. Esta estequiometria só é quebrada em certas condições, como hipóxia e/ou isquemia, quando a glicólise é ativada pela falta de O₂

Os primeiros estudos sobre metabolismo cerebral em humanos avaliaram as diferenças arteriais carótídeas e venosas jugulares de oxigênio, glicose e lactato, em adultos sadios (a maioria dos quais estudantes de medicina), no que

até hoje se constitui o maior grupo controle, cujos valores normais ainda servem como base para uma variedade de metodologias e técnicas.

As diferenças artério-venosas de glicose e lactato são medidas, respectivamente, como as simples diferenças de suas concentrações em sangue arterial e do bulbo jugular (CRUZ, 1993).

1.2.2. Lactato

A utilização de lactato pelos neurônios cresce com a queda da glicemia, sua captação não sugerindo ser limitante ao nível da desidrogenase láctica. Quando oxidado completamente pelo cérebro, o lactato pode contribuir com até 21 % do total de oxigênio, consumido pelo encéfalo. Estudos experimentais em cães mostraram que esta taxa pode se elevar até 50% quando o lactato arterial atinge 3mM/11 (HELLMANN, 1982). Assim, o lactato pode se constituir em combustível energético substituto da glicose, com grande importância nos estados hipoglicêmicos (ARIZMENDI, MEDINA, 1983), e, talvez, também nos hiperglicêmicos ou normoglicêmicos, como no exercício físico intenso (LARRABEE, 1983). Entretanto, em condições de isquemia ou hipóxia e nas atividades inflamatórias agudas e graves (i.e., meningites bacterianas e tuberculosas), o encéfalo passa de consumidor a produtor de lactato (LJUNGGREN et al., 1979).

Os principais mecanismos de adaptação energética cerebral parecem ocorrer no período perinatal. No final da gravidez, o cérebro do feto nutre-se de glicose de origem materna. Nesta fase, a utilização de glicose ocorre de modo inadequado, em função da pequena oxigenação do sangue no feto, acarretando grande produção de lactato (CREMER, CUNNINGHAM, 1983).

Como consequência deste quadro metabólico, o recém-nascido apresenta, nas primeiras horas, hipoglicemia instalada temporariamente, em função da glicogenólise ineficiente e da imaturidade das enzimas participantes da neoglicogênese (CUEZVA et al., 1980). Nesta fase, o substrato energético disponível em maior quantidade é o lactato (HELLMAN, 1982), havendo evidências experimentais de que a sua oxidação, com produção de energia,

constitua mecanismo importante na homeostase energética cerebral durante as duas primeiras horas de vida (ARIZMENDI, MEDINA, 1983).

1.3. Metabolismo cerebral enzimático

Segundo Wilkinson (1976), a mensuração de enzimas no soro é um indicador muito sensível da existência de doenças. Em alguns casos, essa mensuração pode, inclusive, apontar a localização da injúria tecidual. A mensuração de lactato desidrogenase, creatinaquinase e suas isoenzimas séricas sugerem a existência de infarto agudo do miocárdio (ROE, 1977). Portanto, é razoável inferir que a mensuração de enzimas do FCE deve prover informações importantes sobre as desordens do Sistema Nervoso Central, onde ocorrerem injúrias teciduais. Consideram-se doenças causadoras de lesão tecidual em SNC os acidentes vasculares encefálicos, meningites bacterianas, neoplasias, hidrocefalia, aumento de pressão intracraniana, entre outras (SAVORY & BRODY, 1979).

As enzimas mais frequentemente estudadas nas alterações do sistema nervoso central são a lactato desidrogenase (LDH) e suas isoenzimas, e a creatinaquinase e suas isoenzimas (SAVORY & BRODY, 1979).

1.3.1. Lactato desidrogenase

A LDH catalisa a oxidação reversível do lactato para piruvato com o cofator NAD⁺. A concentração de LDH nos eritrócitos é 150 vezes maior do que no plasma, sendo assim, uma hemólise leve é detectada por aumento nos níveis desta enzima no soro. É uma enzima presente em vários tecidos, em particular no músculo esquelético, músculo cardíaco, fígado e eritrócitos, mas também nos rins, osso e pulmões. Existem cinco isoenzimas conhecidas, que não são comumente analisadas nos laboratórios veterinários. Isoladamente a enzima não é específica para nenhum órgão (BAPTISTELLA, 2009).

Segundo González e Silva (2006), o piruvato, o qual é o produto final da glicólise, pode seguir 3 rotas: 1. Aerobiose: piruvato é oxidado e descarboxilado na mitocôndria para gerar acetil-CoA no Ciclo de Krebs; 2. Anaerobiose: piruvato

sofre redução para produzir lactato, utilizando o NADH produzido na fase oxidativa. Ocorre nos eritrócitos (não tem mitocôndrias) e no músculo esquelético durante exercício prolongado. 3. O piruvato pode servir de precursor de outros compostos: aminoácidos e glicose.

A enzima lactato desidrogenase (LDH) é comumente estudada na presença de tumores encefálicos, e seu nível no fluido cerebroespinal (FCE) ainda não é um consenso. O tecido encefálico normal apresenta alta concentração de LDH e suas isoenzimas, fato similar ao encontrado no soro (Gerhardt *et al.*, 1963; Gerhardt *et al.*, 1967, Rabow & Kristensson, 1977). Rabow & Kristensson (1977) estudaram 28 pacientes com tumores malignos e benignos no sistema nervoso central, e encontraram a enzima LDH aumentada em mais de 50% no FCE, não correlacionadas à malignidade do tumor, mas os dois maiores níveis de LDH coincidiam com os tumores classificados como astrocitomas graus 3 e 4, considerados os piores quadros entre os pacientes do estudo.

A enzima lactato desidrogenase pode ser usada para avaliação de injúria aguda ao tecido nervoso, quando aferida no FCE. Em 30 pacientes humanos, estudados por Kaltiala *et al.* (1968), a LDH estava aumentada no FCE de pacientes com contusão encefálica. A enzima foi mensurada no soro, mas esse dado não correlacionou com a severidade da lesão encefálica, nem com o nível da enzima presente no FCE.

Outro estudo encontrou que a LDH não estava aumentada em concussões leves, enquanto que concussões moderadas, severas ou fatais mostraram elevação significativa do nível de LDH no FCE. Essa elevação não foi encontrada no soro sanguíneo. Os pesquisadores sugeriram que essas enzimas podiam ter valor prognóstico em lesões severas do encéfalo, mas ainda faltavam subsídios para entender quais partes do encéfalo estavam envolvidas na lesão, e a incapacidade de determinar se os neurônios estavam danificados ou destruídos (Florez *et al.*, 1976).

Muitos pesquisadores dedicaram seus estudos ao entendimento do comportamento da enzima LDH durante infecções do SNC. Diversos estudos encontram LDH total aumentada no FCE de indivíduos acometidos por meningite

bacteriana, em relação aos controles, e estava também muito aumentada em relação aos pacientes com meningites assépticas, essas últimas contando apenas com um pequeno aumento da enzima. Os níveis de LDH caíram conforme houve melhora clínica nesses pacientes. (Beaty & Oppenheimer, 1968; Neches & Platt, 1968).

Hidrocefalia também é apontada como doença em que a LDH está aumentada, assim como outras situações em que a pressão intracraniana está alta. Nesses casos, o estabelecimento de uma derivação ventrículo- peritoneal, ou a resolução do quadro de pressão intracraniana aumentada, levam os níveis de LDH ao normal novamente (Lending et al., 1964).

1.3.2. Creatinaquinase

Creatinaquinase (CK) está normalmente presente no encéfalo, no músculo esquelético e no músculo cardíaco, e não está presente nos eritrócitos, o que torna sua mensuração no FCE possivelmente mais específica de indicador de lesão tecidual encefálica em patologias como acidentes vasculares encefálicos, hemorragias subaracnóides, lesão encefálica aguda, entre outras. No metabolismo cerebral, a creatinaquinase atua mantendo um suplemento adequado de ATP, pois é um reservatório de creatina e fosfato (McIlwain, 1963; Wolintz et al., 1963).

Greenblatt (1976) estudou a CK do FCE em hemorragias subaracnóides agudas, e encontrou uma elevação de seus níveis, que correlacionou com evidência de destruição significativa do parênquima encefálico, como acontece, por exemplo, em doenças como hidrocefalia, acidente vascular hemorrágico isquêmico, hematoma parenquimatoso, e coágulo intraventricular.

Florez et al. (1976) encontraram, em injúria aguda ao tecido encefálico, elevação significativa da CK do FCE em concussões leves, elevação significativa da em concussões moderadas e severas em relação à elevação encontrada nas concussões leves, e elevação significativa da enzima em concussões fatais em relação à elevação encontrada nas concussões moderadas e severas.

Outras doenças associadas com níveis elevados de CK no FCE incluem Distrofia Muscular de Duchennes (Banerji et al., 1973), tumores encefálicos e hidrocefalia com aumento de pressão intracraniana (Herschkowitz et al., 1964; Nathan, 1967).

Bayer et al., reportou um caso de dano encefálico severo em um paciente humano de 18 meses de idade, com elevação da fração CK BB no FCE, e elevação da CK MM no soro sanguíneo, demonstrando o uso clínico das isoenzimas da CK no FCE, distinguindo fase aguda da doença, de momento de sequela.

OBJETIVO

Descrever a cinética de lactato, glicose, creatinaquinase e lactato desidrogenase nas seguintes amostras: sangue proveniente das artérias carótidas, sangue proveniente das veias jugulares, e fluido cerebrospinal proveniente de espaço subaracnóide na região atlanto-occipital de cordeiros neonatos hígidos, em dois momentos distintos.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Local de experimentação

O experimento foi realizado no Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária da UNIMAR, com animais obtidos da Cabanha Unimar situada no interior da Fazenda Experimental “Marcelo Mesquita Serva” da Universidade de Marília – UNIMAR (Figura 1), latitude sul 22°12' 50" e longitude oeste 49° 56' 45 (Figura 1), no período de julho a setembro de 2014, na cidade de Marília, São Paulo, 668m acima do nível do mar. Antes de ser realizado o projeto passou por aprovação da coordenação da Faculdade de Medicina Veterinária da universidade, bem como de sua reitoria, representada pelo senhor reitor Márcio Mesquita Serva. O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” – UNESP - Botucatu, sob protocolo n° 193/2013 - CEUA.



Figura 1: Cabanha UNIMAR - Fazenda Experimental “Marcelo Mesquita Serva” – Local de Experimentação. Fonte: Mirela Ribeiro Verdugo, 2014.

2.2. Animais

Foram utilizados 15 cordeiros mestiços de Texel x Suffolk, neonatos, hígdidos, nascidos de ovelhas igualmente hígdidas, cobertas por monta natural, sendo dois gêmeos e 13 uníparos. Foram realizadas três estações de monta durante o ano, em um lote de 300 ovelhas no total. As coberturas eram anotadas e ao final da estação foi realizado diagnóstico de gestação por ultrassonografia para certificação da prenhez. Formou-se então um lote de matrizes prenhes (Figura 2), que foi separado das demais e inserido no manejo rotativo da cabanha. Os piquetes utilizados eram de Tifton 85, gramínea do gênero *Cynodon spp.*, e as ovelhas eram suplementadas com sal mineral específico para a espécie, produzido na própria faculdade, e fornecido *ad libitum*.



Figura 2: Lote de ovelhas prenhes. Fonte: Mirela Ribeiro Verdugo, 2014

Sanitariamente as ovelhas eram vermifugadas de acordo com a necessidade, através de acompanhamento mensal por exame parasitológico de fezes, pelo método de contagem de ovos por grama (OPG), e vacinadas contra clostridioses no terço final da gestação.

O parto foi acompanhado sem necessidade de intervenção em todos os animais avaliados. Nenhum animal participante do experimento veio a óbito durante o período avaliado. Os cordeiros ficaram com suas mães até o desmame (Figura 3).



Figura 3: Ovelhas e cordeiros ao pé. Fonte: Mirela Ribeiro Verdugo, 2014

2.3. Cuidados com os neonatos e avaliação clínica

Os cordeiros eram mantidos com suas mães ao nascimento, para estabelecimento de vínculo materno-filial. Os animais mamaram colostro, se levantaram e caminharam espontaneamente. Foi utilizada solução de iodo a 5% para a cura dos umbigos. Antes do procedimento de sedação para as colheitas, os cordeiros eram avaliados clinicamente. Foram realizadas ausculta cardio-

pulmonares, palpações abdominais e articulares, aferição de temperatura e pressão arterial. Todos os animais apresentaram parâmetros normais, e essa avaliação não excluiu nenhum animal do experimento, garantindo que a seleção dos animais acontecesse ao acaso, pela ordem de nascimentos nos dias de realização do experimento.



Figura 4: Cordeiro monitorado Fonte: Mirela Ribeiro Verdugo, 2014

2.4. Momentos do estudo

Os momentos foram escolhidos dentro do período neonatal da vida dos cordeiros. O momento 1, quando os animais tinham 24 horas de vida, é a menor idade da vida do cordeiro onde os parâmetros fisiológicos estavam estabilizados e normalizados, após o nascimento. A precocidade da avaliação do primeiro

momento se devia ao objetivo de demonstrar a cinética das variáveis estudadas, quando o cordeiro ainda fosse muito jovem, e após 14 dias, quando ele já estaria saindo da vida neonatal, mais maduro (momento 2).

2.5. Colheita das amostras

Os animais foram sedados durante as colheitas das três amostras, nos dois momentos estudados (Figura 4). Eles foram separados das mães apenas alguns minutos antes do procedimento. Inicialmente, foi utilizada Acepromazina na dose de 0,05mg/Kg pela via intramuscular, para a pré-anestesia. A indução foi realizada com Propofol 1mg/Kg pela via intravenosa, e a manutenção, com a mesma droga, foi realizada em doses de 0,5mg/Kg pela via intravenosa. Os animais foram mantidos com a veia cefálica canulada, caso houvesse algum momento crítico na sedação, e estiveram em intubação orotraqueal durante o procedimento. Os animais extubaram por sua vontade, ao final do procedimento. Assim que estavam respirando sozinhos e caminhando, os animais foram devolvidos para suas mães. Cada procedimento, onde se colhiam as três amostras, sangue carotídeo, sangue jugular e fluido cerebroespinal durou, em média, quatro minutos.

2.6. Colheitas

2.6.1. Lactato

As amostras de sangue dos cordeiros foram colhidas em dois momentos M1 e M2, que correspondiam ao tempo transcorrido após o nascimento, respectivamente, de 24h, ou 14 dias. Os seguintes métodos foram utilizados para a colheita dos materiais: sangue venoso por venopunção jugular sem execução de oclusão mecânica proximal, com a utilização de agulhas de 0,45 x 13mm BD e seringas plásticas descartáveis de 3 mL BD; sangue arterial por punção de carótida, com utilização de agulhas 0,30 x 13mm e seringas descartáveis de 3mL BD; fluido cérebro-espinal por punção atlanto-occipital, após tricotomia (Figura 5) e antissepsia, com a utilização de mandril metálico de Cateter Intravenoso

Jelco 20G. As três amostras foram acondicionadas em tubos de vidro secos, limpos, sem anti-coagulante ou outros aditivos, numerados de 1 a 3. Uma única gota de sangue arterial, sangue venoso e fluido cérebro-espinhal foi utilizada para a avaliação direta do lactato, imediatamente após a colheita das amostras, mediante a utilização do analisador portátil (Accutrend, Roche Diagnostic Corporation, Indianapolis, IN, USA).

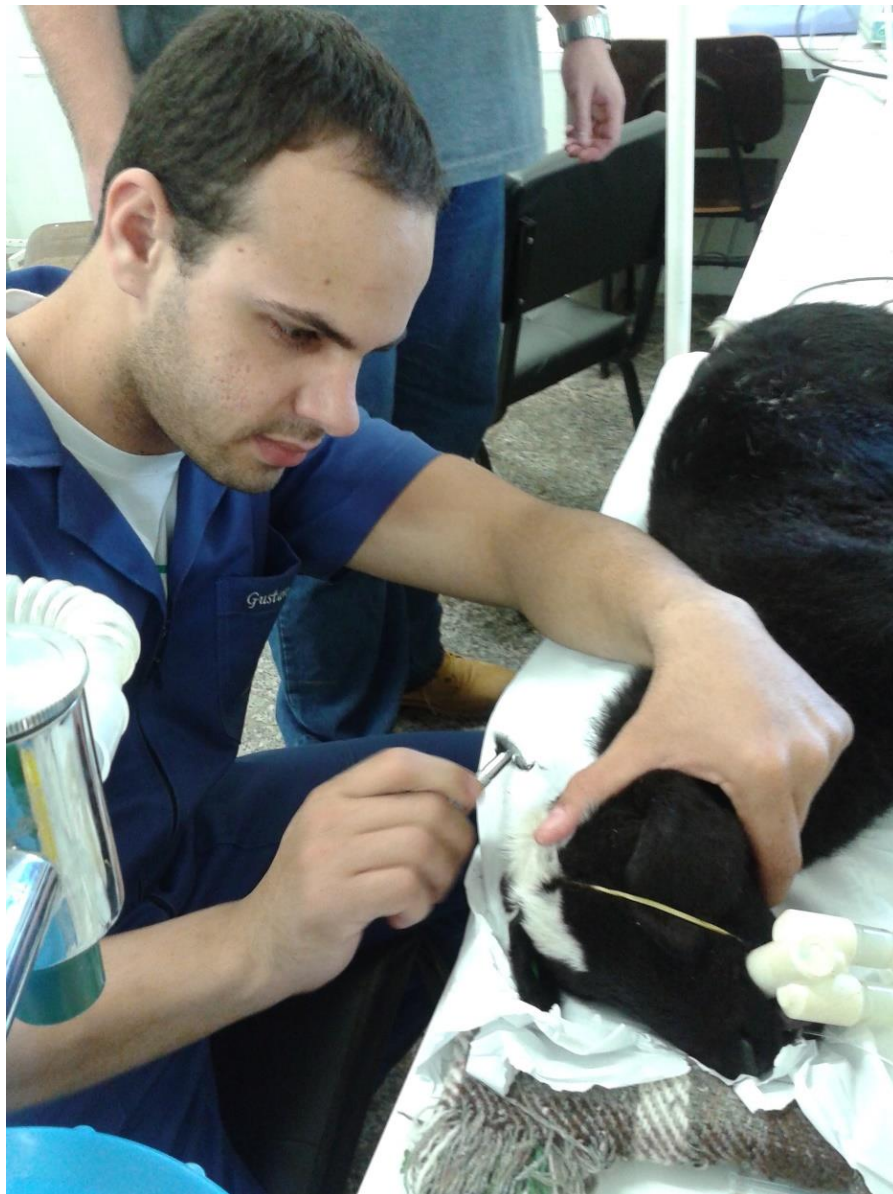


Figura 5: Tricotomia da região Atlanto-occipital. Fonte: Mirela Ribeiro Verdugo, 2014.

2.6.2. Glicose

As amostras de sangue dos cordeiros foram colhidas em dois momentos M1 e M2, que correspondiam ao tempo transcorrido após o nascimento, respectivamente, de 24 horas ou 14 dias. Os seguintes métodos foram utilizados para a colheita dos materiais: sangue venoso por venopunção jugular sem execução de oclusão mecânica proximal, com a utilização de agulhas de 0,45 x 13mm BD e seringas plásticas descartáveis de 3 mL BD; sangue arterial por punção da artéria carótida, com utilização de agulhas 0,30 x 13mm e seringas descartáveis de 3mL BD; fluido cérebro-espinhal por punção atlanto-occipital, após tricotomia e antissepsia, com a utilização de mandril metálico de Cateter Intravenoso Jelco 20G. As três amostras foram acondicionadas em tubos de vidro secos, limpos, sem anti-coagulante ou outros aditivos. Uma única gota de sangue arterial, sangue venoso e fluido cérebro-espinhal foi utilizada para a avaliação direta do lactato imediatamente após a colheita das três amostras, com o glicosímetro portátil (Accu-chek Active®, Roche Diagnostic Corporation, Indianapolis, IN, USA).



Figura 5: Colheita do fluido cerebroespinal. Fonte: University of Ottawa

2.7. Análise química da creatinaquinase e lactato desidrogenase

As amostras foram submetidas à mensuração da atividade das enzimas CK¹ e LDH² em equipamento de bioquímica automatizada (Cobas Mira Plus - Roche(R)). Essas amostras foram processadas no Laboratório de Patologia Clínica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP – Campus de Botucatu.

2.8. Análise Estatística

Primeiramente, a distribuição das diversas variáveis divididas nos dois momentos do estudo (M1 e M2) foi verificada por análise gráfica associada ao teste de Shapiro-Wilk. Foi utilizado o teste de Wilcoxon para medidas repetidas para confrontar a mediana de cada variável dentro dos dois momentos estudados. Para comparar os níveis de glicose e lactato nos diferentes locais (carótida, jugular e líquor), foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis seguido pelo pós-teste de Dunns. As análises foram efetuadas com o auxílio do PROC NPAR1WAY do Statistical Analysis Software – SAS versão 9.4 (SAS Institute, 2011) Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente diferentes.

1- Método Cinético UV – Kit CK NAC UV – Bioclin (R)

2- Método Cinético UV – Kit DESIDROGENASE LÁTICA LDH UV

3. RESULTADOS

Em relação ao local de proveniência das amostras (sangue da jugular, sangue da carótida e fluido cerebrospinal), observou-se diferença estatística ($p < 0,05$) na dinâmica da glicose entre as três amostras, no momento 2 (Gráfico 1). Demais dinâmicas (glicose no momento 1, Lactato no momento 1 e Lactato no momento 2, LDH no momento 1 e no momento 2, CK no momento 1 e no momento 2) não apresentaram diferenças estatísticas significantes.

Em relação à análise dos momentos, observou-se diferença estatística ($p < 0,05$) nas aferições de glicose provenientes da amostra sangue de carótida (CAR-GLIC) (Gráfico 2), e fluido cerebrospinal (FCE-GLIC) (Gráfico 3).

Ainda em relação à análise de momentos, não foram encontradas diferenças estatísticas entre as seguintes amostras: glicose em amostra de sangue da jugular (JUG-GLIC), lactato em amostra de sangue da carótida (CAR-LAC), lactato em amostra de fluido cerebrospinal (FCE-LAC), lactato em amostra de sangue da jugular (JUG-LAC), creatinaquinase em amostras de sangue da jugular (JUG-CK), em amostras de sangue da carótida (CAR-CK) e em amostras de fluido cerebrospinal (FCE-CK), lactato desidrogenase em amostras de sangue da jugular (JUG-LDH), em amostras de sangue da carótida (CAR-LDH) e em amostras de fluido cerebrospinal (FCE-LDH).

A tabela 1 contém o número de observações (n), mediana, valores de mínimo (Mín) e máximo (Máx) para cada variável 24 horas depois do nascimento, e aos 14 dias de idade, e valores P do teste de Wilcoxon para medidas repetidas para a comparação entre os momentos. Valores de $p < 0,05$ indicam diferença estatística entre os momentos.

Tabela 1: Número de observações (n), Mediana, Mínimo (Mín) e Máximo (Máx) para cada variável 24 horas depois do nascimento, e aos 14 dias de idade, e valores P do teste de Wilcoxon para medidas repetidas para a comparação entre os momentos.

Variável	Unidade	Momento	n	Mediana	Mín	Máx	valor P
CARCK	U/L	M1	16	148,50	46,00	3268,00	0,6527
		M2	15	229,00	75,00	487,00	
CARLDH	U/L	M1	16	428,50	2,40	1000,00	0,8794
		M2	15	6,00	2,40	2624,00	
CARLAC	Mmol/ml	M1	15	2,80	1,30	4,90	0,1475
		M2	12	1,75	0,80	8,00	
CARGLIC	mg/dl	M1	15	102,00	42,00	142,00	0,0310*
		M2	15	95,00	76,00	113,00	
JUGCK	U/L	M1	16	129,50	38,00	341,00	0,8040
		M2	15	102,00	49,00	989,00	
JUGLDH	U/L	M1	16	434,50	2,40	729,00	0,3496
		M2	15	47,00	2,40	2590,00	
JUGLAC	Mmol/ml	M1	15	3,40	1,40	5,30	0,2256
		M2	13	1,40	0,90	8,30	
JUGGLIC	mg/dl	M1	15	102,00	75,00	135,00	0,2736
		M2	15	94,00	75,00	115,00	
FCECK	U/L	M1	13	9,00	0,00	28,00	0,9141
		M2	14	14,00	0,00	110,00	
FCELDH	U/L	M1	15	4,50	2,00	60,00	0,9492
		M2	14	2,40	0,00	26,00	
FCELAC	Mmol/ml	M1	15	2,40	1,00	5,70	0,8945
		M2	14	2,40	1,30	3,50	
FCEGLIC	mg/dl	M1	15	95,00	51,00	115,00	0,0002*

CAR-CK: creatinaquinase na carótida; CAR-LDH: lactato desidrogenase na carótida; CAR-LAC: lactato na carótida; CAR-GLIC: glicose na carótida; JUG-CK: creatinaquinase na jugular; JUG-LDH: lactato desidrogenase na jugular; JUG-LAC: lactato na jugular; JUG-GLIC: glicose na jugular; FCE-CK: creatinaquinase no fluido cerebrospinal; FCE-LDH: lactato desidrogenase no fluido cerebrospinal; FCE-LAC: lactato no fluido cerebrospinal; *Valores P < 0,05 indicam diferença estatística dentre os momentos.

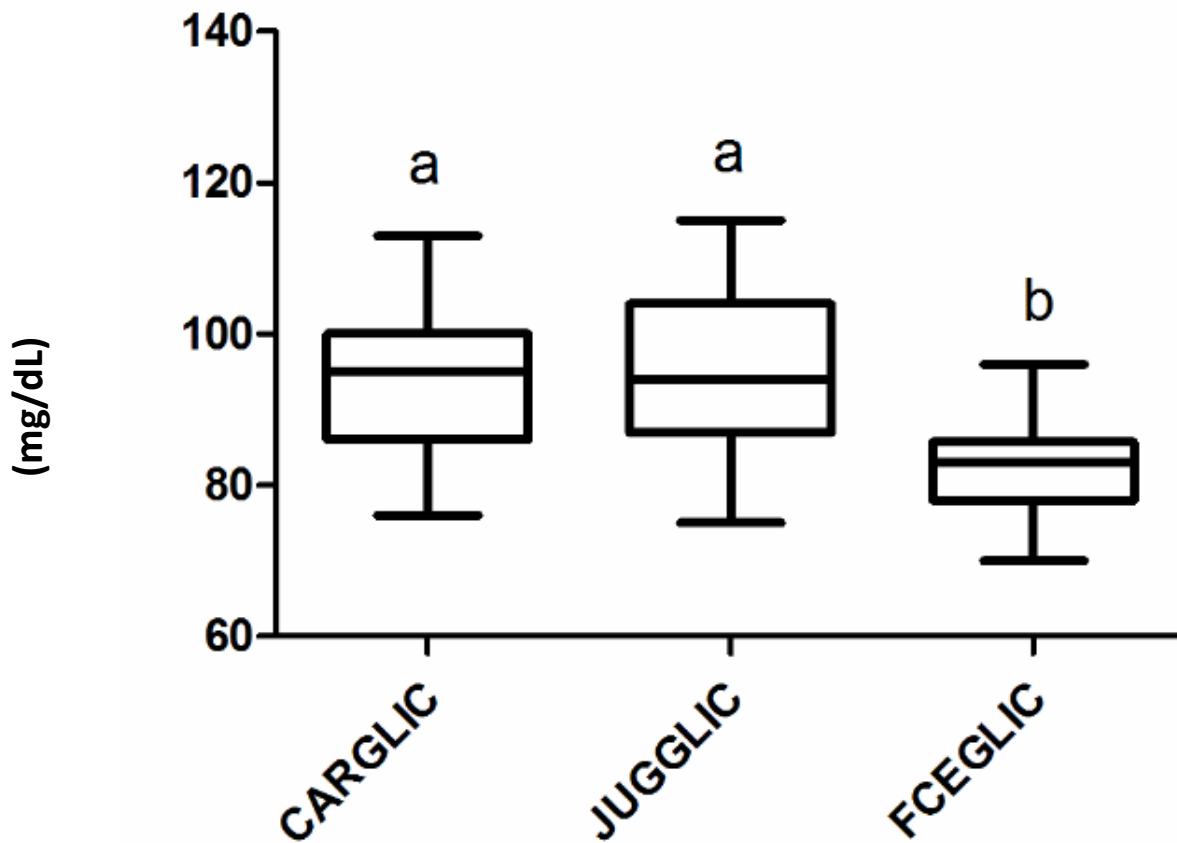


Gráfico 1: Dinâmica da concentração de glicose entre as três amostras estudadas, sangue de carótida (CAR-GLIC), sangue de jugular (JUG-GLIC) e fluido cerebrospinal (FCE-GLIC) no momento 2, aos 14 dias de vida. Letras diferentes (a b c) indicam diferença estatística ($p < 0,05$) dentro dos grupos.

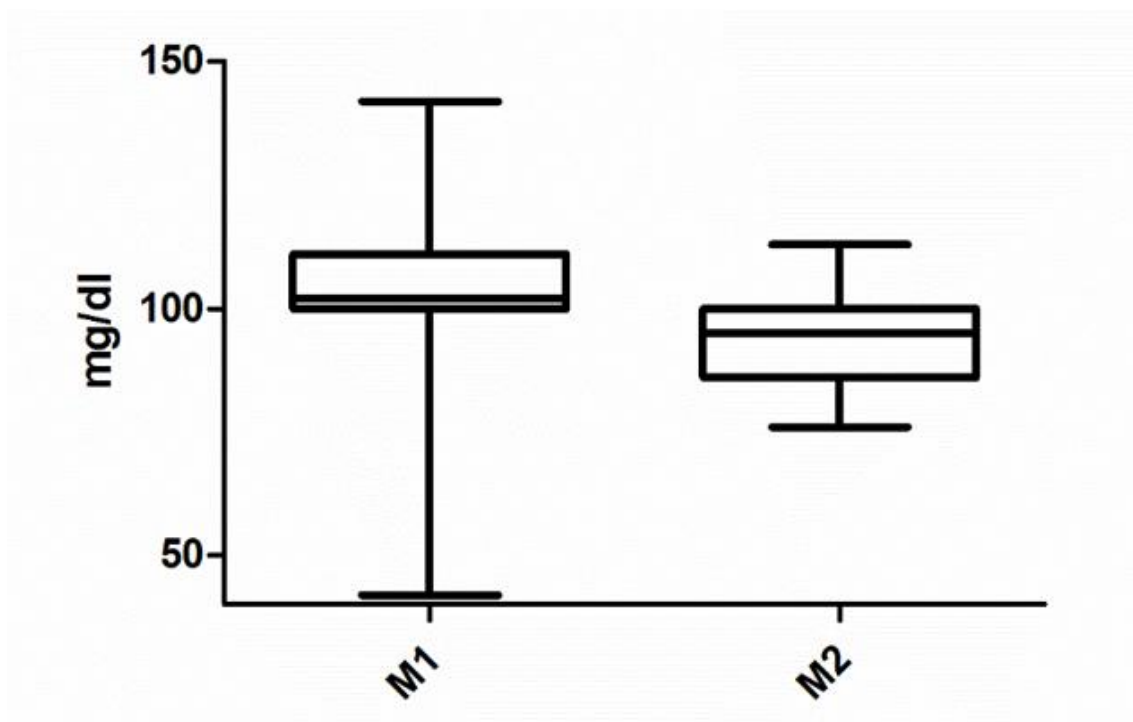


Gráfico 2: Glicose em sangue da artéria carótida (CAR-GLIC), onde houve diferença estatística ($p < 0,05$) entre os momentos 1 e 2 (M1 e M2).

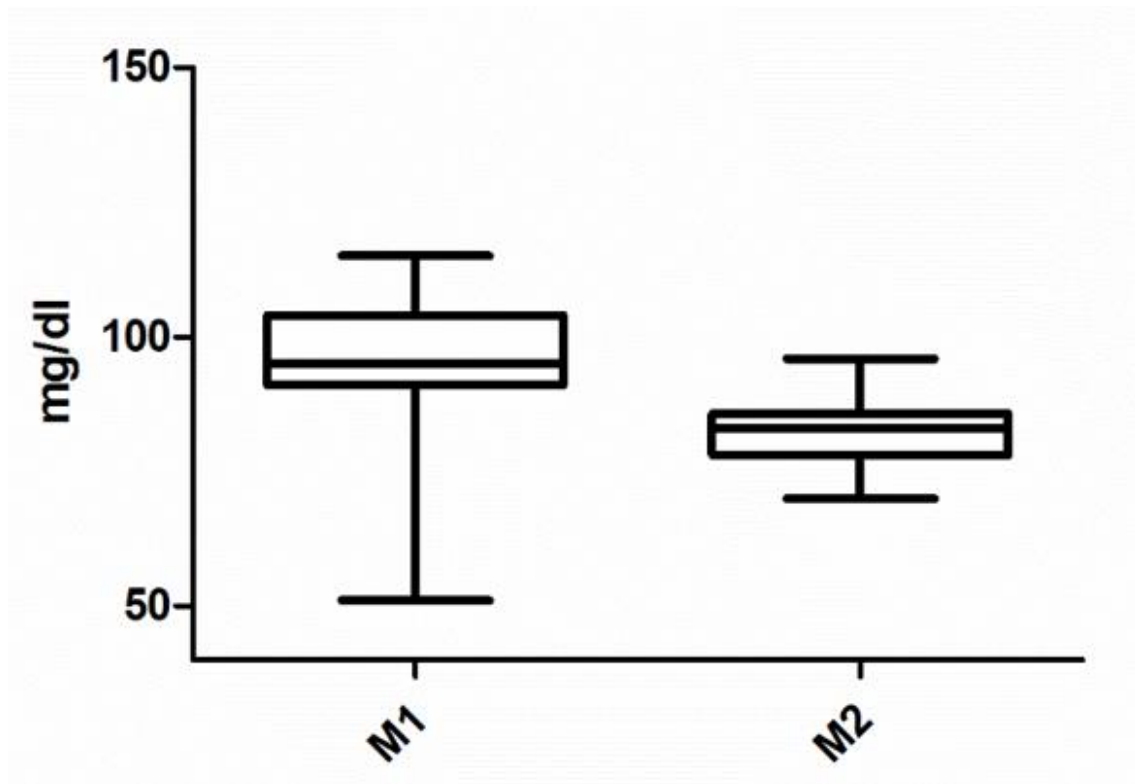


Gráfico 3: Glicose em fluido cerebrospinal (FCE-GLIC), onde houve diferença estatística ($p < 0,05$) entre os momentos 1 e 2 (M1 e M2).

4. DISCUSSÃO

O fluido cerebrospinal de todos os animais foi colhido da cisterna magna, região atlanto-occipital. Essa região foi escolhida pois o objetivo era estudar o micro-ambiente encefálico, e a cisterna magna é a região caudal ao encéfalo que está mais próxima a ele, garantindo assim que não houveram reabsorções, perdas, ou enriquecimentos do fluido cerebrospinal no percurso dele até a colheita.

A concentração de glicose aferida na artéria carótida apresentou diferença estatística entre os dois momentos. No momento 1, os valores aferidos variaram entre 42mg/dL e 142mg/dL; no momento 2, os valores aferidos variaram entre 76mg/dL e 113mg/dL. Segundo Andrade (2002), a glicemia do neonato humano declina nas primeiras horas de vida, e se eleva em até seis horas nos neonatos saudáveis. O recém-nascido humano a termo possui reservas adequadas de glicose, enquanto que o prematuro e o de baixo peso não, devido à falta de tempo hábil para acumular reservas. Segundo Chan et al. (1993), a glicemia ao nascimento de bezerros, na ausência da ingestão de colostro, relaciona-se ao metabolismo hepático e de glicogênio muscular, os quais respondem principalmente à ação de catecolaminas, como a noradrenalina e adrenalina.

Os cordeiros com 24 horas de vida, ou seja, os cordeiros no momento 1, são animais muito jovens, e que apresentam metabolismo global ainda imaturo, musculatura muito delicada, e o fígado ainda em fase de adaptação da transição fetal-neonatal, dados que podem explicar a maior variação entre máximos e mínimos encontrados no momento 1, em relação ao momento 2, onde as mínimas são maiores, e as máximas são menores que no momento 1.

Necessitam-se, portanto, de novos estudos durante as primeiras 24 horas horas de vida, combinadas com avaliações do sistema de gliconeogênese nos neonatos cordeiros – fígado e tecido muscular. Avaliações funcionais do fígado e músculos, tais como avaliações de enzimas hepáticas e musculares e o piruvato, em animais submetidos a jejum leve, moderado e prolongado, além das morfológicas, como ultrassonografias, tomografias computadorizadas contrastadas e ressonâncias magnéticas podem nos ajudar a compreender o

comportamento desses tecidos no período neonatal, e elucidar, entre outras coisas, a capacidade gliconeogênica e glicogenolítica desses órgãos, e a flutuação da glicemia nesses pacientes.

A concentração de glicose no fluido cerebrospinal dos cordeiros apresentou diferença estatística entre os dois momentos estudados. Os valores de máxima e de mínima para essa variável foram, respectivamente, 51mg/dL e 115mg/dL no momento 1, e 70mg/dL e 96mg/dL no momento 2. Segundo Greenberg (2014), o valor total da glicorraquia deve corresponder a 2/3 do valor total da glicemia do mesmo animal, com amostras colhidas em curto espaço de tempo entre uma e outra. Entre as condições que poderiam levar a glicorraquia a um valor menor que 2/3 da glicemia, seriam as meningites infecciosas, as neoplasias, a neurotuberculose. Os animais estudados apresentaram exame clínico normal, e foram nascidos de ovelhas igualmente normais, em rebanho saudável. A glicorraquia dos animais permaneceu dentro do espaço de normalidade, tanto na mediana estudada, quanto na avaliação dos resultados não tratados, cordeiro a cordeiro.

Apesar de não diferirem entre os momentos, as medianas de lactato encontradas na jugular e na carótida dos cordeiros, nos dois momentos estavam aumentadas em relação às referências para animais adultos da mesma espécie. Peternelli Silva et al. (2013) estudou 20 cordeiros neonatos imediatamente após o parto eutócico, e encontrou os seguintes valores de lactato sérico: $2,9 \pm 0,3$ mmol/L. Esses valores foram superiores aos limites de referência estabelecidos para espécie ovina, cuja variação, segundo Kaneko (1997), é de 1,00 a 1,33 mmol/L.

Thorngren-Jerneck et al. (2001) estudaram o efeito da asfixia fetal da injúria hipóxico-isquêmica cerebral em cordeiros. A concentração média de lactato arterial nos cordeiros sob asfixia induzida no momento do parto (12,7 mmol/L), aos cinco (14,9 mmol/L) e aos 10 minutos (15,6 mmol/L) após o nascimento, foi mais elevada quando comparada ao grupo-controle sem asfixia avaliado aos cinco e aos 10 minutos (12,1 e 12,3 mmol/L, respectivamente). Quatro horas após o parto, houve queda acentuada dos níveis de lactato nos

cordeiros do grupo-controle (7,9mmol/L) em relação aos neonatos submetidos à asfixia (11,5mmol/L). A diminuição do lactato pode ser justificada pela depuração gradativa e pelo consumo do lactato por meio da conversão em piruvato para a produção de energia, indicando uma reversão da hipóxia tecidual a que o neonato foi submetido até o momento do parto (SOUZA E ELIAS, 2006).

Além disso, a placenta é produtora de lactato, e transfere para o feto a termo índices maiores dessa substância, que levará algumas horas para ser depurada no organismo imaturo do neonato. Parte da lactatemia neonatal das espécies domésticas deve-se portanto, à produção placentária (PRESTES & LANDIM-ALVARENGA, 2006).

Em relação ao local de proveniência das amostras (sangue da jugular, sangue da carótida e fluido cerebroespinal), observou-se diferença estatística ($p < 0,05$) na dinâmica da glicose entre as três amostras, no momento 2 (Gráfico 1). Segundo Greenberg (2014), o valor total da glicorraquia, concentração de glicose no fluido cérebroespinal, descrita em mg/dL, deve corresponder a 2/3 do valor total da glicemia do mesmo animal, com amostras colhidas em curto espaço de tempo entre uma e outra. Os resultados obtidos, portanto, corroboram com a literatura estudada.

Entre as amostras que não diferiram, a principal hipótese aventada é a de que o n realizado não confere um poder estatístico suficiente para detectar uma diferença que, biologicamente, é esperada. Sugere-se, então, a realização de estudo similar, utilizando-se de um número maior de cordeiros, e até mesmo um número maior de momentos, para descrever realmente uma curva das variáveis, e melhorar o entendimento do metabolismo dessas substâncias nos neonatos da espécie ovina.

5. CONCLUSÃO

As hipóteses estabelecidas no início do estudo não se confirmaram após a experimentação e análise dos dados. Sugerem-se muitos outros estudos para aumentar o esclarecimento acerca dos temas propostos, tais como:

- 1) Aumentar o “n” de animais estudados
- 2) Aumentar o número de momentos estudados. Foram escolhidos apenas dois momentos pois haviam poucos estudos que sustentavam que a sedação de animais tão jovens fosse transcorrer tranquilamente. Entretanto, para compreender a curva da cinética da glicose e do lactato, seriam necessários alguns outros momentos de coleta. Para tal, técnicas como cateterização arterial, venosa e peridural podem ser empregadas para aumentar o número de momentos estudados. Os animais submetidos a tais técnicas não poderiam viver a pasto, como os cordeiros desse experimento, e sim viver em ambiente hospitalar enquanto durar o experimento, acompanhado de sua mãe, até a desinstalação dos cateteres referidos.
- 3) Estudar as mesmas variáveis com o animal consciente (não sedado). Devido ao método de colheita escolhido, os animais eram sedados antes de cada procedimento. Se os animais portassem cateteres arteriais, venosos e peridurais durante o período todo de avaliação, eles poderiam ser sedados apenas uma vez, para a instalação desses, e as amostras do estudo poderiam ser colhidas enquanto os animais estivessem despertos. Como o encéfalo agrega em si o controle de atividades motoras, sensórias e cognitivas, e o cordeiro sedado está inibido em todas essas atividades encefálicas, é possível que o metabolismo cerebral, o que engloba consumo de glicose e lactato, e produção de lactato pelas células dessa região, esteja muito diminuído, provocando o efeito sobre o índice aferido dessas variáveis, levando a dados analisados que não diferem entre momentos, e entre locais de colheita das amostras.
- 4) Estudar outras espécies animais, que comportam-se, evolutivamente, de forma diferente dos neonatos ovinos, que são precociais. Os cães, por

exemplo, são animais altriciais: eles levam muito mais tempo para maturar vias ascendentes e descendentes para atividades corriqueiras, como levantar-se e caminhar. Esses animais nascem com um encéfalo mais imaturo, mas quando são adultos, possuem atividades cognitivas mais elaboradas que os ovinos, diferenças essas que sugerem que essas espécies, e ainda outras, devem ser comparadas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACKERMANN RF, FINCH DM, BABB TL, ENGEL JJr. Hippocampal recurrent inhibition: decreased pyramidal cell firing with increased metabolism in the pyramidal cell layer demonstrated by the 2-deoxyglucose autoradiographic technique. *Soc Neurosci Abstr* 1981, 7:457.

ANDRADE, S.M.A. Glicemia neonatal – comparação dos resultados da determinação da glicemia em recém-nascidos através de amostra sérica venosa e amostra de sangue capilar. 2002. 91p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002.

ARIZMENDI C, AND MEDINA JM. Lactate as an oxidizable substrate for rat brain in vitro during the perinatal period. *Biol Neonate* 1983 , 44:36-41

ARMSTRONG, L.; STENSON, B.; BLICKSTEIN, I.; GREEN, T. Effect of delayed sampling on umbilical cord arterial and venous lactate and blood gases in clamped and unclamped vessels. *Arch Dis Child Fetal Neonat*, v. 91, n. 5, p. 342, 2006.

BAYER, P. M., GABL, F., GRANDITSCH , G., WIDHALM, K., ZYMAN, H., AND DEUTSCH, E.: Creatine kinase isoenzymes in cerebrospinal fluid in a case of brain damage. *Clin. Chem.* 22:1405-1407, 1976.

BABTISTELLA, M. F. Atividade sérica das enzimas aspartato aminotransferase, creatinina e lactato desidrogenase em equinos submetidos a diferentes intensidades de exercícios. *Anuário da Produção de Iniciação Científica Discente*. Vol. XII, n.13, p.33-42, 2009.

BANERJI, A . P., KHOPKAR, P. P., DESHPANDE, D. H., AND DESAI, A. D.: Study of creatine phosphokinase isoenzymes of serum and cerebrospinal fluid in a patient with Duchenne muscular dystrophy. *Clin. Chim. Acta* 43:431-434, 1973.

BARON AD, BRECHTEL G, WALLACE P, EDELMAN SV. Rates and tissue sites of non-insulin and insulin mediated glucose uptake in humans. *Am J Physiol* 1988, 255:E769-E774

BARROSO, R.M.V. GALLEGO, J.G.; TALHATE, J.; DENICOLLI, L.; IDERIHA, N.M.; RABELO, R.; BERTOLINI, M.M.; SARMENTO, P. A utilização do lactato como marcador biológico prognóstico. *UNESC em revista*, v.9, p.157-172, 2006.

BEATY, H.N. AND OPPENHEIMER, S.: Cerebrospinal fluid lactic dehydrogenase and its isoenzymes in infections of the central nervous system. *N. Eng. J. Med.* 279:1197-1202, 1968.

BELETTINI, S.T.; ALBERTON, L.R.; SILVA, R.P.B.; LOURENÇO, R.F.; PACHALY, J.R. Avaliação dos níveis séricos de lactato em cães submetidos a anestesia dissociativa. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da Unipar*, Umuarama, v.11, n.2, p.87-95, jul/dez. 2008.

BORRUTO, F.; COMPARETTO, C.; TREISSER, A. Prevention of cerebral palsy during labour: role of foetal lactate. *Arch Gynecol Obstet*, v. 278, n. 1, p.17-22, 2008.

BROLIO, M.P.; AMBRÓSIO, C.E.; FRANCIOLLI, A.R.; MORINI, A.C.; GUERRA, R.R.; MIGLINO, M.A. A barreira placentária e sua função de transferência nutricional. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.34, n.4, p.222-232, out/dez, 2010.

CASTAGNETTI, C.; PIRRONE, A.; MARIELLA, J. MARI, G. Venous blood lactate evaluation in equine neonatal intensive care. *Theriogenology*, v.73, p.343-357, 2010.

CHAN, W. W.; LONKER, F. H.; RAUSCH, W. D.; TAVERNE, M. A. M. Plasma catecholamines and blood chemistry in newborn calves in relation to different obstetrical procedures and to neonatal outcome. *Animal Reproduction Science*, v.34, n.1, p. 43-54, 1993.

CREMER JE, CUNNINGHAM VJ. and Seville MP. Relationships between extraction and metabolism of glucose, blood flow, and tissue blood volume regions of rat brain. *J Cer Blood Flow Metab* 1983, 3:291-302.

CRESPILHO, A.M.; MARTINS, M.I.; SOUZA, F.F.; LOPES, M.D.; PAPA, F.O. Abordagem terapêutica do paciente neonato canino e felino: 2. Aspectos relacionados à terapia intensiva, antiparasitários e antibióticos. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.31, p.425-432, 2007.

CRISSIUMA, A.L.; LABARTHE, N.V.; JUPPA, C.J.; MANNARINO, R.; SOARES, A.M.B.; GERSHONY, L.C. Analyzing blood gasometry at 3 time points of the feto-neonatal transitional period of dogs born by elective caesarean section parturition. *Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*, v.4, p.15-22, 2006.

CRUZ, J. Hemometabolismo Cerebral – De medidas isoladas a medidas de monitorização e terapêutica. [*Arq Neuropsiquiatr.*](#) 1993 Mar;51(1):1-7

CUEZVA JM., MORENO FS., MEDINA JM., MAYOR F. Prematurity in the rat: fuels and gluconeogenic enzymes. *Biol Neonate* 1980, 37: 88-95.

DEISENHAMMER F., BARTOS A., EGG R., GILHUS N.E., GIOVANNONI G., RAUER S., SELLEBJERG F. Guidelines on routine cerebrospinal fluid analysis. Report from an EFNS task force. *European Journal of Neurology* 2006, 13: 913–922

FELDMAN, B.F. Cerebrospinal fluid. In: KANEKO, J. J. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 4. ed. San Diego: Academic Press, 1989. p. 835-865.

FLOREZ, G., CABEZA, A., GONZALEZ, J. M., GARCIA, J., UCAR, S.: Changes in serum and cerebrospinal fluid enzyme activity after head injury *Acta Neurochir.* 35:3-13, 1976.

FLORIANO, B.P.; OLIVEIRA, G.C.V; VIVAN, M.C.R. OLIVA, V.N.L.S. Lactato sanguíneo na avaliação dos efeitos da peridural torácica em cães anestesiados pelo isofluorano. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.40, n.3, p. 574-579, mar, 2010.

GABBAS, D.T.; MATSUBARA, L.M.; OLIVA, V.N.L.; RODELLO, L.; ROSSI, C.N.; PERRI, S.H. Estado neurológico e cardiorrespiratório de filhotes de cães nascidos de parto normal ou de cesariana sob anestesia inalatória com sevofluorano. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.36, n.5, p.1450-1455, set-out, 2006.

GERHARDT, W., CLAUSEN, J., CHRISTENSEN, E., AND RIISHEDE, J.: Lactate dehydrogenase isoenzymes in the diagnosis of human benign and malignant brain tumors. **J. Nat. Cancer Inst.** 38:343-357, 1967

GERHARDT, W., CLAUSEN , J., CHRISTENSEN, E., AND RIISHEDE, J.: Changes of lactate dehydrogenase isoenzymes, esterases, acid phosphatases, and proteins in malignant and benign human brain tumors. *Acta Neurol. Scand.* 39:86-111, 1963.

GIBSON, G.E., JOPE, R., BLASS J. Decreased synthesis of acetylcholine accompanying impaired oxidation of pyruvic acid in rat brain minces. *Biochem J*, 1975, 148:17-23.

GLASER, J – The cerebrospinal fluid of premature infants. *Amer. J. Dis. Child*, 36:195, 1928.

GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. Perfil Bioquímico no Exercício. In: *Introdução à Bioquímica Clínica Veterinária*. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2006.

GREENBERG, D.A. Neurologia Clínica. 8ª. Edição. Rio Grande do Sul: AMGH Editora, 2014. 463 páginas.

GREENBLATT, S. H.: C erebrospinal fluid creatine phosphokinase in acute subarachnoid hemorrhage. *J. Neurosurg.* 44:50-54, 1976.

HELLMANN J, VANNUCI RC, NARDIS EE. Blood-brain permeability to lactic acid in the new-born dog: lactate as a cerebral metabolic fuel. *Ped Res* 1982, 16:40-44.

HERSCHKOWITZ, N. AND CUMINGS, J. N.: Creatine kinase in cerebrospinal fluid. *J. Neurol. Neurosurg. Psych.* 27 :247-250, 1964.

KALTIALA, E. H., HEIKKINEN, E. S., KARKI, N. T., AND LARMI, T. K. I.: Cerebrospinal fluid and serum transaminases and lactic dehydrogenase after head injury. *Acta Neurol. Scand.* 44:124- 129, 1968.

KANEKO, J.J. Lipids and ketones. In: KANEKO, J.J. Clinical biochemistry of domestic animals. 5.ed. San Diego: *Academic*, 1997. p.83- 115.

KRUSE, J.A.; CARLSON, R.W. Lactate metabolism. ***Critical Care Clinics***, v.5, p.725-746, 1987.

LARRABEE, M.G. Lactate uptake and release in the presence of glucose by sympathetic ganglia of chicken embryos and by neuronal cultures prepared from these ganglia *J Neurochem* 1983, 40:1237-1250

LAVOR, M.S.L.; POMPERMAYER, L.G.; NISHIYAMA, S.M. et al. Efeitos fetais e maternos do propofol, etomidato, tiopental, e anestesia epidural, em cesariana eletiva em cadelas. *Ciência Rural*, v.34, n.3, p.1833-1839, 2004.

LENDING M., SLOBODY, L. B., AND MESTERN , J.: Cerebrospinal fluid glutamic oxalacetic transaminase and lactic dehydrogenase activities in children with neurologic disorders. *J. Pediat.* 65:415-421, 1964.

LJUNGGREN B, RATCHESON RA., SIESJÖ BK.Cerebral metabolic state following complete compression ischemia. *Brain Res* 1979, 73:291-307.

LOURENÇO, M.L.G.; MACHADO, L.H.A. Características do período de transição fetal-neonatal e particularidades fisiológicas do neonato canino. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, Belo Horizonte, v.37, n.4, p.303-308, 2013.

MARCONI, A.M.; CETIN, I.; FERRAZZI, E.; FERRARI, M.M.; PARDI, G.; BATTAGLIA, F. Lactate metabolism in normal and growth-retarded human fetuses. *Pediatric Research*, v.28, n.6, p.652-656, 1990.

MCILWAIN, H.: Chemical Exploration of the Brain: A Study of Cerebral Excitability and Ion Movement. New York, *Elsevier Publishing Co.* 1963, pp. 43-4

MILLER, D.R., JACKSON, R. B. ,BLACHE, D, ROCHE, J.R. Metabolic maturity at birth and neonate lamb survival and growth: The effects of maternal low-dose dexamethasone treatment. *J. Anim Sci.* 2009 Oct; 87 (10):3167-78.

NATHAN, M. J.: Creatine phosphokinase in the cerebrospinal fluid. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 30:52-55, 1967.

NECHES, W. and Platt, M.: Cerebrospinal fluid LDH in 287 children, including 53 cases of meningitis of bacterial and non-bacterial etiology. *Pediatrics* 41:1097-1103, 1968 no choque. *Medicina*, Ribeirão Preto, v.34, p.27-35, 2001.

NÓBREGA JR, J.E.; RIET-CORREA, F.; NÓBREGA, R.S.; MEDEIROS, J.M.; VASCONCELOS, J.S.; SIMÕES, S.V.; TABOSA, I.M. Mortalidade perinatal de cordeiros nascidos no semi-árido da Paraíba. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.25, p.171-178, 2005.

NORSWORTHY, G.D., TILLEY, L., CRYSTAL, M.A., GRACE, S.F. *O Paciente Felino*, 2 ed., São Paulo: Manole, 2004, pg. 607-612.

PARDRIDGE WM, OLDENDORF WH. Transport of metabolic substrates through the blood- brain barrier. *J. Neurochem* 1977, 28:3-12.

PRESTES, N.C.; LANDIM-ALVARENGA, F.C. 2006. *Obstetrícia Veterinária*. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 28-34.

RABOW, L., KRISTENSSON, K.: Changes in lactate dehydrogenase isoenzyme patterns in patients with tumors of the central nervous system. *Acta Neurochir.* 36:71-81, 1977.

RIZZONI, L.B.; MIYAUCHI, T.A. Principais doenças dos neonatos equinos. *Acta Veterinaria Brasilica*, v.6, n.1, p.9-16, 2012

ROE, C. R.: Diagnosis of myocardial infarction by serum isoenzyme analysis. *Ann. Clin. Lab. Sci.* 7:201-209, 1977

ROSSDALE, P.D. The maladjusted foal: influence of intrauterine growth retardation and birth trauma. *In: Proceedings of the 50th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners*, 2004, Denver, CO. Denver: AAEP. p.75-126, 2004.

SAS Institute. *SAS/STAT User's Guide*. SAS Institute Inc., Cary, NC. 2011.

SAVORY, J., BRODY, J.P. Measurement and Diagnostic Value of Cerebrospinal Fluid Enzymes *Annals of Clinical And Laboratory Science*, Vol. 9, No. 1 Copyright © 1979, Institute for Clinical Science, Inc.

SIESJÖ BK. Cerebral circulation and metabolism. *J Neurosurg* 1984, 60:883-908.

SILVA, E.; GARRIDO, A.G.; ASSUNÇÃO, M.S. Avaliação da perfusão tecidual no choque. *Medicina*, Ribeirão Preto, v.34, p.27-35, 2001.

SILVA, L.P.; LOURENÇO, M.L.G ; GRANDI, M.C.; VELA ULIAN, C.M; SUDANO, M.J., CHIACCHIO, S.B. Concentração de lactato sérico em ovelhas e cordeiros mestiços (1/2 Suffolk) nascidos em eutocia. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.65, n.4, p.989-994, 2013.

SOKOLOFF L, REIVICH M, KENNEDY C, et al. The [14C] deoxyglucose method for the measurement of local cerebral glucose utilization: theory.procedure and normal values in the conscious and anesthetized albino rat. *J. Neurochem* 1977, 28:887-916.

SOKOLOFF L. Energy metabolism and effects of energy depletion or exposure to glutamate. *Can J Physiol Pharmacol* 1992, 70:S107-S112.

SOKOLOFF L. Metabolism of the central nervous system in vivo. In Field J, Magonon HW. (eds). *Handbook of physiology. Baltimore: Waverly*, 1960, Vol III, Section I, Neurophysiology.

SOUZA, M.H.L.; ELIAS, D.O. Valor prognóstico da acidose láctica durante a perfusão. *Revista Latinoamericana de Tecnologia Extracorpórea*, Rio de Janeiro, v.13, n.2, p 14-17, 2006.

SOUZA, M.H.L.; ELIAS, D.O. Valor prognóstico da acidose láctica durante a perfusão. *Rer. Latinoamer. Tecnol. Extra.*, v.13, p.14-17, 2006.

SPARKS, J.W.; HAY JR, W.W.; MESCHIA, G.; BATAGLIA, F.C. Partition of maternal nutrients to the placenta and fetus in sheep. *European Journal of Obstetrics, Gynecology and Reproduction*, v. 14, p. 331-340, 1983

THORNGREN-JERNECK, K.; HERBST, A. Low 5-minute Apgar score: a population-based register study of 1 million term births. *Obstetrics and Gynecology*, v.98, n.1, p.65-70, 2001.

THORNGREN-JERNECK, K.; LEY, D.; HELLSTRÖM-WESTAS, L. et al. Reduced postnatal cerebral glucose metabolism measured by PET after asphyxia in near term fetal lambs. *J. Neuro. Res.*, v.66, p.884-850, 2001

VIVAN, M.C.R. Correlação dos níveis de lactato sanguíneo com o estado neurológico e cardiorrespiratório de filhotes de cães nascidos de parto normal ou cesariana sob anestesia geral inalatória. Araçatuba: s.n., 2010, 157f.: Il.; tab + cd-rom.

WAITZ, R. - Le Liquide céphalorachidienne du nouveau-né. *Rev. Franç. Pédiat.* 4:1, 1928

WILKINSON, J. H.: The Principles and Practice of Diagnostic Enzymology. *Year Book Medical Publishers, Inc.*, Chicago, 1976

Wolintz, A. H., Jacobs, L. D., Christoff, N., Solomon, M., and Chernik, N.: Serum and cerebrospinal fluid enzymes in cerebrospinal disease. *Arch. Neurol.* 20:54-61, 1969.

YAROWSKY PJ, INGVAR DH. Neuronal activity and energy metabolism. *Fed Proc* 1981, 40:2353-2362

YOSHIDA S, IKEDA M, BUSTO R et al. Cerebral phosphoinositide, triacylglycerol, and energy metabolism in reversible ischemia: origin and fate of free fatty acids. *J Neurochem* 1986 ,47:744