

Maria Lucia Gomes Lourenço

**Efeito da idade e da suplementação
com luteína no hemograma, nas enzimas
hepáticas, na glicemia e no proteinograma
de neonatos felinos**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária na Área de Clínica Veterinária

Orientador: Prof. Ass. Dr. *Flávio Quaresma Moutinho*

***Botucatu –SP
2004***

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO
DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: SELMA MARIA DE JESUS

Lourenço, Maria Lucia Gomes.

Efeito da idade e da suplementação com luteína no hemograma, nas enzimas hepáticas, na glicemia e no proteinograma de neonatos felinos / Maria Lucia Gomes Lourenço. – 2005.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2005.

Orientador: Flávio Quaresma Moutinho

Assunto CAPES: 50501062

1. Neonatologia veterinária 2. Gato

CDD 636.8089

Palavras-chave: Felinos; Gatos; Luteína; Neonatos

Dedicatória



A *Deus, por tornar todas as coisas
dessa vida possíveis.*

Aos meus pais, **Haroldo** e **Maria**, a força da minha vida. Pelo amor que me oferecem e pelo sacrifício que suportaram. **Obrigada, eu amo vocês!**

Como agradecer a todas as pessoas

Agradecimentos

que
traba
ensin
sidad
nimo
ração
conv
aqui



defendida, portanto: muito obrigada a todas !!!!!!!

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista, Campus de Botucatu/ FMVZ-Unesp (Pós-graduação, área de Clínica Veterinária) instituição que me acolheu desde 1994.

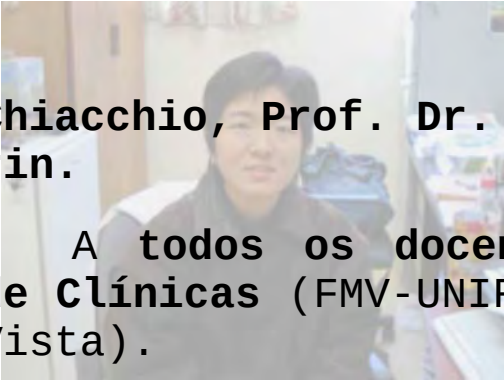
À Faculdade de Medicina Veterinária do Centro Universitário da Fundação de Ensino Octávio Bastos, São João da Boa Vista/ FMV-UNIFEOB, pelo apoio financeiro concedido a esta pesquisa.

Aos meus queridos orientadores Profa. Dra. Helena Ferreira e Prof. Dr. Flávio Quaresma Moutinho pelo exemplo de dedicação e orientação, pelo carinho, paciência e acima de tudo pela amizade demonstrada em tantos anos de convivência.

Á Profa. Dra. Michiko Sakate (FMVZ – Unesp/ Botucatu), pelo carinho e consideração, demonstrados em todos os momentos.

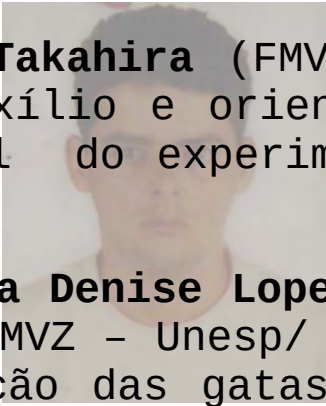
Aos docentes do programa de Pós-graduação (FMVZ – Unesp/ Botucatu) pelas disciplinas ministradas.

A todos os docentes do departamento de Clínica Médica (FMVZ – Unesp/ Botucatu), Prof. Dr. Alexandre Secorun Borges, Profa.Dra. Denise S. Schwartz, Profa. Dra. Michiko Sakate, Prof. Dr. Roberto Calderon Gonçalves e Prof. Dr. Simone

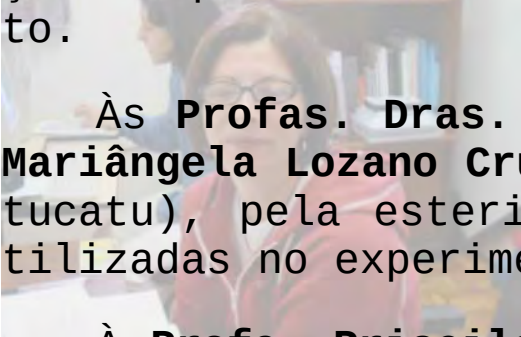


Chiacchio, Prof. Dr. Rogério Martins Amorin.

A todos os docentes das disciplinas de Clínicas (FMV-UNIFEOB/ São João da Boa Vista).

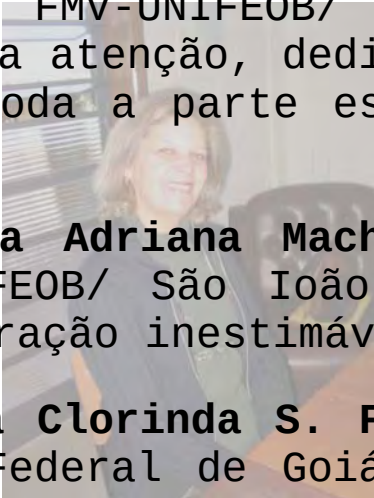


À Prof. Dra. Regina Takahira (FMVZ – Unesp/ Botucatu) pelo auxílio e orientação na parte laboratorial do experimento.

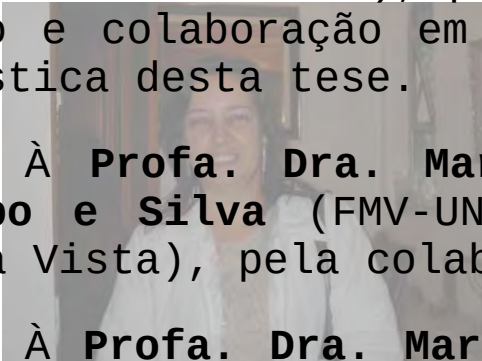


Às Profas. Dras. Maria Denise Lopes e Mariângela Lozano Cruz (FMVZ – Unesp/ Botucatu), pela esterilização das gatas utilizadas no experimento.

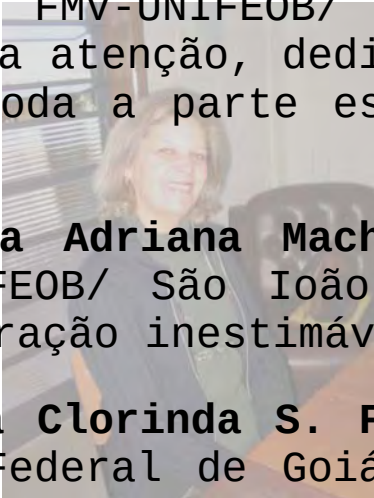
À Profa. Priscila de Carvalho Oliveira (FMV-UNIFEOB/ São João da Boa Vista), minha grande amiga, que me ensinou num momento difícil, que a amizade é o que realmente importa.



Ao Prof. Dr. Iúlio César de Carvalho Balieiro (FMVZ-USP e FMV-UNIFEOB/ São João da Boa Vista), pela atenção, dedicação e colaboração em toda a parte estatística desta tese.



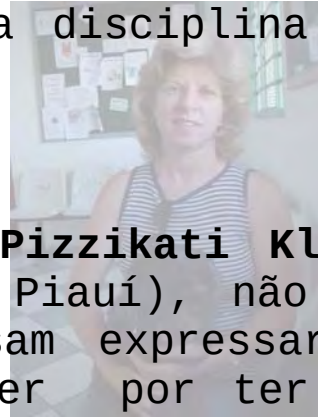
À Profa. Dra. Maria Adriana Machado Lobo e Silva (FMV-UNIFEOB/ São João da Boa Vista), pela colaboração inestimável.



À Profa. Dra. Maria Clorinda S. Fioravanti (Universidade Federal de Goiás), pelo carinho, amizade e atenção desde a

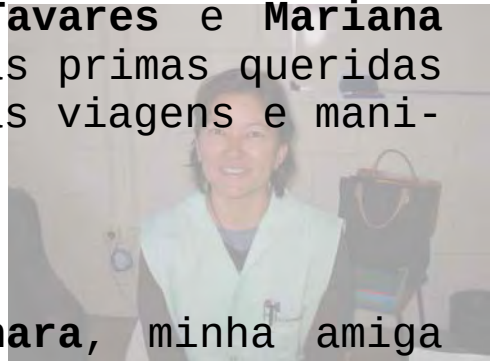
época da residência quando nos conhecemos.

À **Profa. Maria Lucia Marcucci Torres** (FMV-UNLFE0B/ São João da Boa Vista), minha colega inseparável da disciplina de Clínica.

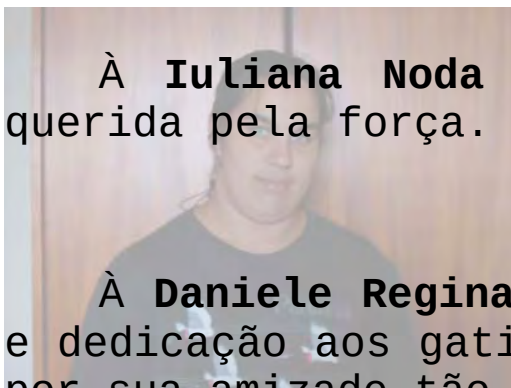


À **Prof. Dra. Roseli Pizzikati Klein** (Universidade Federal do Piauí), não existem palavras que possam expressar o que sinto e como agradecer por ter te conhecido.

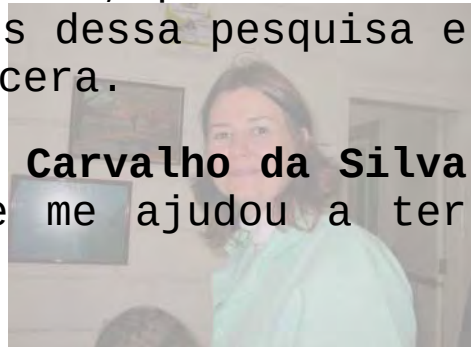
À **Márcia Cassiano Tavares e Mariana Tavares do Amaral**, minhas primas queridas que tanto me ajudaram nas viagens e manipulação dos gatinhos.



À **Iuliana Noda Bechara**, minha amiga querida pela força.



À **Daniele Regina Xavier**, pelo cuidado e dedicação aos gatinhos dessa pesquisa e por sua amizade tão sincera.



À **Angélica do Rocio Carvalho da Silva** minha grande amiga que me ajudou a ter



equilíbrio emocional nesta época tão desgastante da minha vida.

À **Graziela Barioni**, embora não estivéssemos tão juntas no doutorado, nossa amizade nunca deixou de existir.

À **Luciana Pereira Machado** (FMVZ - Unesp/ Botucatu), responsável por toda a parte de hematimetria da pesquisa.

A **Ioandes Henrique Fontequê** (FMVZ - Unesp/ Botucatu), pela boa vontade, paciência e auxílio na realização da eletroforese.

À **Youko Endo** (residente da FMVZ - Unesp/ Botucatu), pela colaboração tão importante.

À **Raquel Reis Martins** (FMVZ - Unesp/ Botucatu) por toda a colaboração antes, durante e após a conclusão da pesquisa.

À **Rita de Cássia Collicchio** (FMVZ - Unesp/ Botucatu), pela paciência, opiniões e amizade desde que nos conhecemos.

À **Izabel Cristina Castro**, funcionária do laboratório de Toxicologia Veterinária (FMVZ – Unesp/ Botucatu)

À **Marcelo Augusto Prado Cristófar**, obrigada pelo carinho, ontem, hoje e para sempre.

À **Luciana Felício de Paula** (FMVZ – Unesp/Botucatu) por sua amizade sincera durante o estágio, na residência, no mestrado, no doutorado e para sempre.

À **Eveline Bouteiller**, pela excelente correção ortográfica da tese e pela atenção.

À **Adnice Ruiz Pedro**, por seu profissionalismo na realização de toda a formação e arte gráfica da tese (*"os detalhes fazem a diferença"*).

À **Prof. Dra. Adriana Pollachini do Valle**, docente da Faculdade de Medicina da Universidade Estadual Paulista, Campus de Botucatu/ FMV-Unesp.

Ao **Sr. Darci Severo**, técnico responsável pelo setor de eletroforese do laboratório de Análises Clínicas (FMV-Unesp/ Botucatu).

À **Maria Salete Sartori**, técnica do setor de Bioquímica do laboratório de Análises Clínicas (FMV-Unesp/ Botucatu).

À **banca de defesa** desta tese de doutorado pela colaboração inestimável!!!!



Επίγραφε



O gato

Vinícius de Moraes

Com um lindo salto
Lesto e seguro
O gato passa
Do chão ao muro
Logo mudando
De opinião
Passa de novo
Do muro ao chão
E pega corre
Bem de mansinho
Atrás de um pobre
De um passarinho
Súbito, pára
Como assombrado
Depois dispara
Pula de lado
E quando tudo
Se lhe fatiga
Toma o seu banho
Passando a língua
Pela barriga



Ana Lúcia Meinhardt

Determinação, coragem e autoconfiança são fatores decisivos para o sucesso. Não importam quais sejam os obstáculos e as dificuldades. Se estamos possuídos de uma inabalável determinação, conseguiremos superá-los. Independentemente das circunstâncias, devemos ser sempre humildes, recatados e despidos de orgulho.

Dalai -Lama

RESUMO	17
ABSTRACT	19
1. INTRODUÇÃO	21
2. REVISÃO DE LITERATURA	26
2.1 Influência da faixa etária	27
2.1.1 Eritrograma	27
2.1.2 Leucograma	43
2.1.3 Glicemia, ALT e GGT	46
2.1.4 Proteínas totais e proteinograma	58

2.2 Influência da Luteína	68
3. MATERIAIS E MÉTODOS	78
3.1 Obtenção dos filhotes	79
3.2 Cuidados com os neonatos	81
3.3 Metodologia da pesquisa	83
3.4 Preparação do imunógeno	85
3.5 Colheita das amostras	86
3.6 Processamento das amostras	87
3.6.1 Hemograma	87
3.6.2 Exames Bioquímicos	88
3.6.2.1 Glicemia	89
3.6.2.2 ALT e GGT	90
3.6.2.3 Proteínas totais e proteinograma.....	90
3.7 Análise estatística	92
4. RESULTADOS	94
4.1 Eritrograma	95
4.2 Leucograma	103
4.3 Glicemia, ALT e GGT.....	112
4.4 Proteínas totais e proteinograma	117
4.5 Peso	127
5. DISCUSSÃO	128
5.1 Influência da faixa etária	129
5.1.1 Eritrograma	129
5.1.2 Leucograma	136
5.1.3 Glicemia, ALT e GGT	141
5.1.4 Proteínas totais e proteinograma	145
5.2 Influência da Luteína	152
5.2.1 Eritrograma	152
5.2.1 Leucograma	155

5.2.3 Glicemia, ALT e GGT	158
5.2.4 Proteínas totais, proteinograma e peso	160
5.3 Considerações finais.....	161
6. CONCLUSÕES	164
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	167
8. ANEXOS	180

Resumo



LOURENÇO, M.L.G. Efeito da idade e da suplementação com Luteína no hemograma, nas enzimas hepáticas, na glicemia e no proteinograma de neonatos felinos” Tese de Doutorado em Medicina Veterinária – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

O período neonatal caracteriza-se por um período crítico de adaptação dos diversos sistemas orgânicos. A avaliação dos efeitos da idade e a suplementação com luteína durante esta fase do desenvolvimento, faz-se necessária no que diz respeito às perspectivas futuras do uso deste importante carotenóide como imunomodulador em gatos. Embora os efeitos da idade sobre hemograma, enzimas hepática ALT (alanina-aminotransferase) e GGT (gama glutamiltransferase), glicemia e proteinograma, já tenham sido amplamente pesquisados, os valores de referência para gatos sem raça definida, na fase neonatal, ainda apresentam discordâncias. O objetivo deste trabalho foi o de avaliar o efeito da idade e da suplementação com luteína sobre hemograma, enzimas hepáticas, glicemia e proteinograma em gatos neonatos. Foram utilizados 20 gatos, machos e fêmeas, sem raça definida, distribuídos em dois grupos experimentais: um grupo controle e um grupo suplementado com luteína. A suplementação foi realizada diariamente com 1 mL de solução contendo 10 mg de luteína, por via oral, do terceiro dia do nascimento até o 31º dia de idade. As amostras de sangue e as análises laboratoriais (hemograma, enzimas hepáticas, glicemia e proteinograma) foram feitas semanalmente no terceiro, 10º, 17º, 24º 31º e 38º dias de idade. A idade exerceu influência sobre o eritrograma, o número de leucócitos totais, neutrófilos, eosinófilos, basófilos, enzima hepática GGT, proteínas e proteinograma sérico. A suplementação com luteína influenciou o número de basófilos e a concentração sérica de albumina no proteinograma.

Palavras-chave: luteína, gatos, neonatos, avaliação laboratorial

Summary



LOURENÇO, M.L.G. Effect of age and lutein supplementation on the blood count, hepatic enzymes, glycemia, and protein profile of newborn felines. Doctoral Thesis in Veterinary Medicine – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

The neonatal period is characterized by a critical time of adaptation of the different organic systems. The evaluation of the effects of age and of lutein supplementation during this developmental phase is necessary in terms of future perspectives for the use of this important carotenoid as an immunomodulator in cats. Although the effects of age on blood count, on the liver enzymes alanine aminotransferase (ALT) and gamma-glutamyltransferase (GGT), on glycemia and on protein profile have been extensively investigated, there still is discordance about the reference values for cats of undefined race during the neonatal phase. Twenty male and female cats of undefined race were divided into two groups: a control group and a group supplemented with lutein. The supplemented group received daily by the oral route 1 mL of a solution containing 10 mg lutein from three days to 31 days after birth. Weekly blood samples were obtained and laboratory analyses (blood count, liver enzymes, glycemia and protein profile) were performed on the third, 10th, 17th, 24th, 31st and 38th day of age. Age had an influence on red cell count, on number of total leukocytes, neutrophils, eosinophils and basophils, on GGT, proteins and serum protein profile. Lutein supplementation influenced the number of basophils and the serum concentration of albumin in the protein profile.

Key-words: lutein, cats, newborn cats, laboratory evaluation

1. Introdução



Todas as espécies animais são vulneráveis às infecções, particularmente em certos estágios da vida. O período neonatal, que corresponde do nascimento até 30 dias de idade, pode ser caracterizado por uma fase crítica de adaptação de todos os sistemas orgânicos. Na neonatologia, os neonatos requerem cuidados e monitorização específicas destinados à fisiologia e bioquímica únicas desta idade. Assim na Medicina Veterinária, os cuidados necessários não poderiam ser diferentes daqueles dispendidos aos seres humanos.

A imaturidade fisiológica dos diversos sistemas faz com que os valores laboratoriais de referência para gatos neonatos, sejam nas primeiras quatro semanas, diferentes daqueles obtidos para adultos. Embora a literatura descreva índices com uma ampla margem de variações, não existem modelos de referências laboratoriais para gatos sem raça definida, com menos de seis meses de idade. Os estudos atualmente existentes foram realizados com animais de gatil ou de colônia de pesquisa, compostos por raças pré-selecionadas. Grande parte dos valores de referência utilizados são internacionais, não levando em consideração as condições ambientais nacionais. Infelizmente esses valores possuem certa limitação, pois dependem da raça, da nutrição, do ambiente e de fatores patogênicos específicos.

O conhecimento pormenorizado das alterações que ocorrem no hemograma, nas enzimas hepáticas e glicemia e no proteinograma dos gatos sem raça definida, de acordo com o desenvolvimento neo-

natal é de fundamental importância para reduzir os prejuízos causados pelas enfermidades neonatais. Particularmente pelo fato de que grande parte da população de gatos presentes no Brasil não apresentam uma raça definida.

Além da imaturidade funcional orgânica, o feto emerge de um útero considerado estéril, sendo exposto às condições adversas do ambiente logo após o nascimento. Embora um certo grau de proteção seja conferido pelo colostro ou pela passagem de uma pequena porcentagem de anticorpos maternos *in útero* ao feto, até que seu sistema imunológico se torne totalmente desenvolvido e apto, o neonato estará susceptível às infecções.

Durante os primeiros meses de vida, os filhotes são submetidos a várias situações que podem causar um comprometimento da resposta imunológica, aumentando assim a incidência de muitas doenças. Recentes pesquisas demonstram que a suplementação de filhotes com um coquetel à base de antioxidantes, como os carotenóides, pode promover uma modulação favorável da resposta imunológica.

Atualmente o consumo de antioxidantes vem sendo preconizado e, conseqüentemente, mais pesquisas, em humanos e também nos animais, têm surgido. Estudos prévios sobre a ação dos carotenóides têm tido como foco principal o β -caroteno; contudo, durante a última década, o interesse na regulação da função imunológica por outros carotenóides como a luteína, o licopeno, a astaxantina e a cantaxantina tem

aumentado consideravelmente (BENDICH & SHAPIRO, 1986; JYONOUCHI et al., 1995; CHEW et al., 1996; CHEW et al., 1998).

A luteína é um carotenóide que não possui atividade pró-vitamina A, contudo exerce uma ação biológica específica, diminuindo o desenvolvimento de neoplasias, agindo como antioxidante, melhorando a função imunológica (CHEW, 1996) e evitando a progressão da degeneração macular da retina nos humanos (PARK, 1998). Pesquisas recentes sugerem que a suplementação dietética com antioxidantes como a luteína, particularmente em gatos idosos, exerce muitos efeitos benéficos no sistema imunológico, como a produção de maior título de anticorpos e uma maior proliferação de linfócitos mediante à estimulação com conca-
navalina A (HARPER, 2001).

Os benefícios da utilização de antioxidantes como a luteína apresentam perspectivas favoráveis. Contudo, estudos sobre o efeito da suplementação dietética com luteína na função hepática, no hemograma, na glicemia e no proteinograma sérico, especificamente em gatos neonatos, não são descritos na literatura. Uma análise das mudanças que possam ocorrer com esse tipo de suplementação trará uma importante contribuição para um maior conhecimento sobre o papel desse futuro imunomodulador.

As perspectivas de se estimular precocemente o sistema imunológico e os possíveis efeitos dessa estimulação nos perfis hematológicos e hepáticos despertam grande interesse, particularmente nesta fase tão delicada do desenvolvimento e por não haver nenhuma referência na literatura.

O objetivo deste trabalho foi, portanto, avaliar a influência da idade bem como da suplementação oral com luteína no hemograma, nas enzimas hepáticas, na glicemia e no proteinograma em neonatos felinos, do nascimento aos 38 dias de idade.

2. Revisão de Literatura



2.1. INFLUÊNCIA DA FAIXA ETÁRIA

2.1.1. ERITROGRAMA

A eritropoiese no gato se inicia no período fetal por volta do 17° ao 19° dia de gestação, quando os eritroblastos primitivos oriundos do saco vitelínico estão maduros e representam cerca de 98% das células sanguíneas circulantes. Os neutrófilos e os primeiros trombócitos já são visualizados também nesta época. A eritropoiese definitiva pelo saco vitelínico perdura por até 30 dias e aos 36 dias de gestação sua contribuição declina em cerca de 15% (TIEDEMANN & OUYEN, 1978).

A hematopoiese hepática inicia-se no 20° dia de gestação e corresponde a 28% da definitiva, declinando para 4% ao nascimento. A síntese de granulócitos pelo fígado inicia-se ao redor dos 25 dias. A contribuição do baço na síntese sanguínea é pequena e ocorre por volta do 36° dia de gestação. Aos 45 dias, sua atividade é substituída pela medula óssea que supre cerca de 50% das células sanguíneas (TIEDEMANN & OUYEN, 1978).

Em relação aos índices hematológicos, durante a gestação, os valores do hematócrito no gato se elevam de 22% aos 36 dias, para 47% ao nascimento, quando então excedem o valor normal dos adultos. A contagem total de eritrócitos também se eleva de 0,8 milhões no

25° dia, para 3,8 milhões no 45° dia e 6,3 milhões ao nascimento (TIEDEMANN & OUYEN, 1978).

De maneira geral, a contagem eritrocitária, a hemoglobina e o volume globular aumentam progressivamente no feto e apresentam seus valores elevados próximo ao nascimento. O volume corpuscular médio (VCM) diminui gradualmente durante esta fase e persiste acima dos valores considerados normais para adultos após o nascimento, antes de se estabilizar. A concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) varia dentro de uma estreita faixa, de maneira, que aspectos como anisocitose e policromatofilia diminuem sensivelmente com o progredir da gestação. A hemoglobina embrionária é, no decorrer da gestação, lentamente substituída pela fetal que constitui aproximadamente 90 a 95% da hemoglobina presente ao nascimento em muitas espécies domésticas (JAIN, 1993).

Os eritrócitos nucleados são abundantes durante toda a fase fetal, correspondendo aos eritroblastos primitivos e definitivos descritos por TIEDEMANN (1977). Ao longo de todo o desenvolvimento embrionário, os eritroblastos primitivos vão se tornando cada vez mais escassos enquanto as células definitivas repovoam os órgãos hematopoiéticos. As células nucleadas são proeminentes durante toda a fase fetal, mas apresentam uma diminuição ao nascimento. A contagem de reticulócitos é alta no sangue fetal e ao nascimento. Os eritrócitos fetais são osmoticamente mais resistentes que nos adultos (JAIN, 1986).

As proteínas plasmáticas possuem valores mais baixos no período fetal exceto nas últimas semanas de gestação, quando então uma elevação pode ser notada (JAIN, 1993).

A hematopoiese fetal inicia-se, portanto, no saco vitelínico e persiste no gato por um longo período (cerca de 36 dias), com grandes quantidades de células sanguíneas definitivas e também megacariócitos (TIEDEMANN, 1977). Com o decorrer do período gestacional, órgãos como o fígado e o baço exibem uma colonização por células sanguíneas jovens e passam também a exercer um papel importante na síntese sanguínea, sendo aos 45 dias substituídos então pela medula óssea, como principal órgão hematopoiético (TIEDEMANN & OUYEN, 1978).

Logo após o nascimento, o quadro hematológico apresenta certas particularidades inerentes ao período fetal, não só na espécie felina como também em outras espécies domésticas. Ao nascimento, os eritrócitos fetais ainda persistem e os eritroblastos correspondem à cerca de 1/5 das células nucleadas, e estas, na sua grande maioria, constituídas por leucócitos (TIEDEMANN & OUYEN, 1978; HOSKINS, 2001).

Os filhotes nascem com uma população uniforme de células vermelhas, relativamente grandes, isto é com o volume corpuscular médio (VCM) elevado, também conhecido como macrocitose (MURTAGH, 1994). Os valores descritos para o VCM são de 90 fentolitros (fL) ao nascimento (CLINKENBEARD & MEINKOTH, 2000), com uma variação de 60 a 69 fL a partir de uma semana de idade. Os valores considerados

normais para este índice hematológico nos adultos são de 39 a 55 fL, bem inferiores ao limite encontrado ao nascimento, exaltando desse modo o grande volume dos eritrócitos durante o período neonatal (MURTAUGH, 1994).

Com o progredir da idade, a macrocitose, ou o grande volume eritrocitário das células fetais, vai sendo lentamente substituída por uma normocitose ou microcitose e por células menores semelhantes às dos adultos. O início da substituição ocorre por volta da primeira a quinta semana após o nascimento (MURTAUGH, 1994), e persiste por dois, três (HOSKINS, 2001), quatro (CLINKENBEARD & MEINKOTH, 2000) ou até 12 meses (JAIN, 1993), quando o volume dos eritrócitos se aproxima ao dos valores de adultos.

Os valores atribuídos à contagem eritrocitária total, à hemoglobina e ao volume globular (VG) exibem discordância entre alguns autores. Segundo Jain (1993), esses valores são mais elevados ao nascimento (contagem total $4,95 \times 10^6$ / μ L, hemoglobina 12,2 g/dL, VG 44,7%) embora decresçam rapidamente com o início da amamentação e perdurem durante todo o primeiro mês de idade. Para Murtaugh (1994), os neonatos nascem com um VG por volta de 35%, e para Clinkenbeard & Meinkoth (2000), os valores são baixos, com a média para a contagem total de eritrócitos e o VG menores que $4,8 \times 10^6$ / μ L e 26%, respectivamente.

Após a primeira semana de vida, o perfil hematológico neonatal se modifica bastante, havendo uma alteração em todos os parâmetros citados anteriormente e de outros não mencionados.

Com duas semanas de idade o neonato apresenta uma queda vertiginosa na contagem eritrocitária total e no VG, o que representa uma adaptação fisiológica ao ambiente extra-uterino. Cinco minutos após o nascimento, o filhote exibe, em relação ao pH sanguíneo e à hemogasimetria, uma acidemia e uma hipóxia com os valores próximos de 7,21 para o pH, 46mmHg para a pressão arterial de CO₂ e 50 mmHg para a pressão de O₂. Cerca de uma a 24 horas após, esses valores já se alteram atingindo valores de pH = 7,33; PaCO₂ = 36 mmHg; PaO₂ = 63 mmHg e pH = 7,37; PaCO₂ = 33 mmHg; PaO₂ = 73 mmHg, respectivamente (MOON et al., 2001).

Após as primeiras 24 horas portanto, a tensão de oxigênio é acentuadamente mais alta do que nos valores fetais, o estímulo para a eritropoiese é reduzido e uma diminuição na contagem de eritrócitos é evidente em três a sete dias após o nascimento. Este fenômeno ocorre em consequência da diminuição da produção medular, por hemodiluição por expansão do volume plasmático em decorrência da ingestão de colostro e pela menor duração dos eritrócitos fetais que persistem mesmo após o nascimento (MEYERS-WALLEN, 1984).

O declínio da série vermelha durante o período neonatal é denominado “anemia fisiológica” do recém-nascido e ocorre por volta da

segunda semana de vida persistindo por mais de quatro semanas. Neste período crítico de adaptação fisiológica, que corresponde de duas a quatro semanas, há uma queda acentuada nos índices hematológicos. O VG declina de 35,3 % na primeira semana de vida, para 26,5%; a hemoglobina de 12,1 para 8,7 mg/dL; a contagem total de eritrócitos de 5,29 para $4,67 \times 10^6 / \text{mm}^3$ e o VCM e a CHCM de 67,4 para 53,9 fL e 34,5 para 33 g/dL, respectivamente (MEYERS-WALLEN, 1984; HOSKINS, 2001) (Tabela – 1).

A transição entre a diminuição dos eritrócitos fetais e o aumento do número de eritócitos neonatais ocorre por volta das quatro semanas de idade (HOSKINS, 2001). Segundo Windle et al. (1940), os valores de VG superiores a 40% como nos adultos, são inexistentes no gato antes de dois meses e meio de idade.

A partir da terceira semana de idade, a eritropoiese ocorre num ritmo mais acelerado com uma discreta elevação, na contagem total de eritrócitos, no VG e na concentração de hemoglobina, embora a concentração média por célula esteja diminuída neste período. Isto implica uma interferência na síntese de hemoglobina, que não acompanha a ampla demanda de eritrócitos neoformados. A produção de hemoglobina pode ser considerada o fator limitante na eritropoiese neonatal, uma vez que depende dos níveis séricos de ferro (MEYERS-WALLEN, 1984).

Anemia por deficiência nutricional de ferro pode ser encontrada em neonatos felinos por volta da terceira a quinta semana. O

efeito do rápido crescimento corpóreo, o repovoamento sanguíneo com eritrócitos neonatais em substituição aos fetais e a menor concentração de ferro no leite materno combinada ao desmame podem ocasionar esse tipo de anemia (HOSKINS, 2001).

Num estudo em neonatos de três semanas com concentração sérica normal de ferro, a substituição dos grandes eritrócitos fetais por células de tamanho normal ocorreu por volta de cinco semanas. Animais com baixos estoques de ferro tiveram um maior índice de micrócitos, com um VCM abaixo de 24 fL e um VG variando entre 12 a 30%. Estes neonatos não apresentaram hipocromia ou concentrações de ferro e porcentagem de saturação da transferrina estatisticamente significantes. Em contrapartida, 50% dos neonatos anêmicos exibiram eritrócitos fragmentados ao esfregaço sanguíneo, segundo Weiser & Kociba (1983).

Como o tempo de circulação dos eritrócitos no neonato felino é menor, a produção de hemoglobina deve ser mais rápida em relação a outras espécies domésticas, diante do rápido *turnover*. Caso a síntese de hemoglobina não seja rápida o suficiente para a demanda de novos eritrócitos, o CHCM apresentará uma diminuição (MEYERS-WALLEN, 1984).

A fragmentação eritrocitária, mencionada por Weiser & Kociba (1983), requer alguns comentários no que diz respeito à fragilidade celular. A fragmentação pode estar associada a um dano oxidativo da membrana, a qual resulta na diminuição da complacência e posterior le-

são celular. A vida útil do eritrócito felino é mais curta do que a de outras espécies domésticas, cerca de 66 a 79 dias em média, e até o momento o motivo para tal fato é desconhecido. Há hipótese que isto possa estar relacionado a uma maior predisposição da hemoglobina do gato a danos oxidativos e a um metabolismo protéico diferenciado (MURTAUGH, 1994).

O gato possui um mecanismo muito particular em relação a afinidade hemoglobina-oxigênio por meio da interação da hemoglobina com metabólitos como o 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG). Quando comparada a outras espécies, a hemoglobina felina tem uma baixa afinidade ao oxigênio o que facilita a entrega deste aos tecidos. Os gatos adultos possuem concentrações relativamente baixas de 2,3-DPG no eritrócito. Este metabólico modula a afinidade da hemoglobina ao oxigênio em grande parte das espécies domésticas (MURTAUGH, 1994).

Em grande parte dos mamíferos domésticos, exceto a felina, o sangue fetal possui uma alta afinidade ao oxigênio (níveis menores de 2,3-DPG) a fim de facilitar a extração de oxigênio do sangue materno. No ambiente extra-uterino, esta ampla afinidade acaba por resultar numa diminuição da liberação de oxigênio aos tecidos, altamente desvantajosa (MEYERS-WALLEN, 1984). No feto felino, o oxigênio é transportado adequadamente sem alterações na afinidade da hemoglobina, graças à natureza da placentação e a um mecanismo de contra-corrente do fluxo sanguíneo (KANEKO, 1997).

A concentração de 2,3-DPG tende a aumentar após o nascimento em quase todas espécies domésticas, provocando, deste modo, a diminuição da afinidade da hemoglobina ao oxigênio e liberando-o mais facilmente aos tecidos em crescimento. Nos neonatos felinos, são observadas alterações sutis na curva de dissociação da hemoglobina-oxigênio, embora os valores de 2,3-DPG dos eritrócitos permaneçam semelhantes aos adultos (KANEKO, 1997).

A adaptação neonatal inclui uma alteração na conformação estrutural das moléculas de hemoglobina com propriedades dissociativas diferentes do padrão do adulto (MEYERS-WALLEN, 1984).

Os ajustes compensatórios necessários do neonato felino à hipóxia são similares aos dos adultos com quadro anêmico. O gato adulto tem dois tipos maiores de hemoglobina (HbA e HbB) e três menores (HbB₁, HbB₂, HbB₃) com diferentes graus de afinidade ao oxigênio. A HbA é altamente sensível à modulação pelo metabólito 2,3-DPG, que provoca uma liberação mais rápida de oxigênio tecidual, em contrapartida a HbB é insensível às concentrações do 2,3-DPG assim como a HbB₁ e a HbB₂, possuindo uma alta afinidade ao oxigênio (MEYERS-WALLEN, 1984). O gato é a única espécie animal que, durante um quadro anêmico, exibe um espectro diferente em relação à afinidade da hemoglobina ao oxigênio (MURTAUGH, 1994).

Durante a anemia, as concentrações de HbB diminuem, de HbA não se alteram e as HbB₁ e HbB₂ se elevam, de maneira que a

proporção entre HbA : HbB permanece inalterada. Contudo, as concentrações intracelulares de 2,3-DPG e ATP dos eritrócitos sofrem uma elevação de grande magnitude alterando, dessa maneira, a curva de dissociação de oxigênio, liberando-o mais facilmente para os tecidos. No neonato felino, é possível que ajustes similares nos diferentes tipos de hemoglobina e nas concentrações de 2,3-DPG ocorram no ambiente extra-uterino, compensando a aparente diminuição na capacidade carreadora de oxigênio da hemoglobina, uma vez que a síntese desta parece não acompanhar a crescente demanda de eritrócitos neoformados (MAUAK et al., 1974; MEYERS-WALLEN, 1984).

Como referido anteriormente, a hemoglobina do gato parece ter uma maior suscetibilidade aos danos oxidativos do que de outros animais domésticos. Sendo assim, uma revisão no que diz respeito ao metabolismo e aos mecanismos protetores contra os danos oxidativos e o metabolismo energético se faz necessária, particularmente para uma melhor compreensão sobre como este mecanismo energético pode estar atuando no neonato (KANEKO, 1997).

O oxigênio é um forte oxidante, mas sua reatividade é limitada em virtude de sua configuração elétrica incomum. Embora relativamente não reativo, ele pode ser metabolizado *in vivo* em derivados altamente reativos. Uma simples redução do O₂ produz um radical livre superóxido (O₂⁻), definido como qualquer composto com um ou mais elétrons não pareados (KANEKO, 1997).

Existe no organismo, uma ampla variedade de fontes sintetizadoras de O_2^- *in vivo*, como o citocromo ubiquinona na região b da mitocôndria, reações incompletas do citocromo P_{450} , auto-oxidação da adrenalina, certas flavinas, hemoglobina, grupos sulfidril, enzimas como xantina oxidase e triptofano desoxigenase, e uma ampla carga de oxidantes presentes nos neutrófilos ativados e macrófagos (KANEKO, 1997).

Os superóxidos sofrem uma alteração enzimática para H_2O_2 (peróxido). Na presença de íons ferro ou cobre, o superóxido (O_2^-) e o peróxido (H_2O_2) interagem para formar o radical hidroxil fortemente reativo ($OH^\bullet$). Vários fármacos, metabólitos endógenos e agentes ambientais estão sob a forma de radicais livres ou podem ser convertidos neles por processos metabólicos celulares. Estes radicais livres podem ser mais deletérios que os anteriormente citados (KANEKO, 1997).

A principal fonte de energia do eritrócito é o metabolismo da glicose por intermédio da via glicolítica anaeróbica. Tudo se inicia com a captação da glicose pelo eritrócito, sem que haja a necessidade de insulina para tal; a partir de então, grande parte da glicose é metabolizada em piruvato ou lactato pela via glicolítica. Esta via promove a formação de ATP (adenosina trifosfato) e a redução de NAD^+ (nicotinamida adenina dinucleotídeo) para NADH (nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzida), que são responsáveis pela manutenção do gradiente eletrolítico transmembrana e pela redução da metemoglobina, respectivamente. É impor-

tante salientar também que um ramo dessa via originará o 2,3-DPG, já mencionado anteriormente (MURTAUGH, 1994).

A taxa de captação e utilização de glicose pelo eritrócito felino é menor do que a de outras espécies, sendo de 0,94 $\mu\text{mol/ mL}$ por célula, enquanto no cão e no homem é de 1,48 e 1,33 $\mu\text{mol/ mL}$ respectivamente. Isto pode estar associado ao fato do eritrócito felino não requerer a síntese de 2,3-DPG no metabolismo da glicose (EIBERT & LEWIS, 1997).

Uma parte da glicose (5%-13%) metabolizada pelo eritrócito por via anaeróbica, passa pelo ciclo das pentoses que resulta na redução de NADP^+ (nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato) para NADPH (nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida), importante no processo de oxidação da glutatona (MURTAUGH, 1994).

A glutatona é um tripeptídeo (γ -glutamil-cisteinil-glicina) sintetizado no eritrócito que sofre regeneração até sua forma oxidada, exercendo, dessa maneira, um mecanismo protetor da hemoglobina e de outros componentes contra as injúrias oxidativas, provocadas pelos peróxidos endógenos e uma ampla variedade de fármacos. A glutatona reduzida é constantemente regenerada para que possa manter a integridade celular contra os danos oxidativos, utilizando para tanto o NADPH oriundo do ciclo das pentoses (MURTAUGH, 1994).

O metabolismo energético do eritrócito via glicolítica, fornece também o NADH na redução da metemoglobina. Este composto é

constantemente formado quando o ferro da hemoglobina, presente sob estado ferroso, é oxidado por uma série de compostos endógenos e exógenos, até o seu estado férrico. A metemoglobina não é um composto funcional, sendo incapaz de se ligar eficientemente ao oxigênio. A formação da metemoglobina, no eritrócito em estados normais, ocorre em pequena escala, sofrendo redução imediata pela enzima metemoglobina redutase (MURTAUGH, 1994; KANEKO, 1997).

A hemoglobina felina pode ser oxidada em metemoglobina por uma série de oxidantes com certa facilidade, quando comparada às outras espécies, sendo também mais suscetível à desnaturação oxidativa. A razão para tal fragilidade é atribuída ao maior número de radicais sulfidril por molécula, cerca de oito a 10 no gato e duas a quatro em outras espécies (MURTAUGH, 1994; KANEKO, 1997).

A descrição previamente realizada sobre o metabolismo do eritrócito do gato, particularmente no que diz respeito à hemoglobina e aos mecanismos envolvidos nos quadros anêmicos, fez-se necessária para uma melhor compreensão sobre os possíveis efeitos e local de atuação da substância antioxidante, vista mais adiante.

O desenvolvimento hematológico do gato persiste por um longo período excedendo a fase neonatal de quatro semanas. Os valores de referência para adultos só são obtidos por volta dos dois, três (JAIN, 1993) ou quatro meses de idade segundo Meyers-Wallen (1984). O período crítico para o neonato parece ser mesmo entre a segunda a quarta

semana de idade, com o desenvolvimento da anemia fisiológica do recém-nascido (HOSKINS, 2001).

Os valores encontrados na literatura para o eritrograma de filhotes de gatos com quatro a seis semanas de idade já estão dentro da referência dos adultos, embora mais próximos dos valores mínimos, como podem ser observados na tabela 1.

Segundo Hoskins (2001), não existem modelos de referências hematológicas para gatos sem raça definida, com menos de seis meses de idade. Os estudos atualmente existentes são feitos com base em gatil ou colônia de pesquisa, composto por raças pré-selecionadas. Infelizmente, esses valores mostram certa limitação, pois dependem da raça, da nutrição, do ambiente e dos fatores patogênicos específicos da colônia de pesquisa analisada. Embora esses valores não sejam tão fidedignos, podem servir de guia, e valores muito acima ou abaixo dos referidos para neonatos ou mesmo para adultos podem representar uma anormalidade.

Diversos fatores podem influenciar os valores sanguíneos de referência ou normais para várias espécies. Resultados discordantes entre vários estudos estão relacionados principalmente às diferenças como o número de animais, a origem, a idade, o sexo, a raça, a sanidade e a nutrição dos animais utilizados na pesquisa, bem como o método da colheita e a técnica empregada na análise. Situações como excitação, atividade muscular, equilíbrio hídrico, tempo da colheita, temperatura am-

biente e altitude são fatores que influenciam os valores sanguíneos. Variações diurnas e sazonais podem interferir particularmente nos neonatos, que, por sua vez, podem também sofrer influência da manipulação para a contenção. Portanto, variações fisiológicas e ambientais alteram os valores hematológicos, principalmente os parâmetros referentes aos eritrócitos (JAIN, 1993).

As fontes de variação dos valores hematológicos em gatos são atribuídas especialmente ao sítio ou local de venopunção (hemoglobina, contagem total de leucócitos, neutrófilos e linfócitos são mais elevados quando colhidos da jugular) (JOHNSON & PERMAN, 1968), à ansiedade do paciente associada à colheita da amostra, à quantidade de anticoagulante e ao tempo decorrido da punção até a análise. Uma ampla gama de valores de referência está disponível para gatinhos; contudo, há uma grande divergência, sendo difícil determinar qual o limite de referência é válido para propósitos diagnósticos. Talvez, a utilização dos valores de referência para gatos adultos seja mais indicada para o diagnóstico (CLINKENBEARD & MEINKOTH, 2000).

TABELA 1 - Comparação entre valores de referência do hemograma para neonatos felinos saudáveis segundo os diversos autores.

AUTOR	FAIXA ETÁRIA	ERITRO (x 10 ⁶ /μ)	HGL (g/dL)	VG (%)	VCM (fL)	CHCM (%)	LEUCÓCITOS (x 10 ³ /μ)	BAST	NEUT (x 10 ³ /μ)	LINF (x 10 ³ /μ)	MONO	EOS	BASO
CLINKENBEARD & MEINKOTH (2000)	ADULTOS	5,0-10,0	8,0-15,0	24,0-45,0	39,0-55,0	31,0-35,0	5,5-19,5	0-300	2,5-12,5	1,5-7,0	0-850	0-1500	raros
	0-2sem	5,5-5,0	11,5-12,7	33,6-37,0	65,5-69,3	33,7-35,3	9,1-10,2	40-80	5,3-6,7	3,2-4,2	0-20	500-1400	10-30
COLLES (1984)	2-4sem	4,6-4,8	8,5-8,9	25,7-27,3	52,7-55,1	32,5-33,5	14,1-16,5	70-150	6,2-7,7	6,0-7,1	0-40	1200-1600	0
	0-2sem	4,81-5,77	10,9-13,3	31,9-38,7	63,6-71,2	32,9-36,1	8,53-10,81	20-100	4,6-7,32	2,69-4,77	0-30	100-1820	0-40
MEYERS-WALLEN (1984)	2-4sem	4,47-4,87	8,3-9,1	24,9-28,1	51,5-56,3	31,0-34,0	12,89-17,73	30-190	5,38-8,46	5,38-7,74	0-60	1080-1720	--
	4-6sem	5,43-6,35	8,0-9,2	25,5-28,7	43,0-48,2	30,7-33,1	14,71-20,19	80-320	6,27-12,87	4,87-7,95	--	970-1970	--
JAIN (1993)	0-6 horas	4,95	12,2	44,7	90,3	27,3	7,55	--	--	--	--	--	--
	12-48horas	5,11	11,3	41,7	81,6	27,1	10,18	--	--	--	--	--	--
	7 dias	5,19	10,9	35,7	68,8	30,5	7,83	--	--	--	--	--	--
	14 dias	4,76	9,7	31,1	65,3	31,2	8,08	--	--	--	--	--	--
	21 dias	4,99	9,3	31,3	62,7	29,7	8,82	--	--	--	--	--	--
	28 dias	5,84	8,4	29,9	51,2	28,1	8,55	--	--	--	--	--	--
	42 dias	6,75	9,0	35,4	52,4	25,4	8,42	--	--	--	--	--	--
MURTAUGH(1994)	0-2sem	5,29	12,1	35,3	66,7	34,2	9,67	60	5,96	3,73	10	960	--
	2-4sem	4,67	8,7	26,4	56,5	32,9	15,31	110	6,92	5,56	20	1400	--
	4-6sem	5,89	8,6	27,1	45,8	31,7	17,45	200	9,57	6,41	0	1470	--
HOSKINS (2001)	0-2sem	5,05-5,53	11,5-12,7	33,6-37,0	65,5-69,3	33,7-35,3	9,1-10,24	40-80	5,28-6,64	3,21-4,25	0-20	530-1390	10-30
	2-4sem	4,57-4,77	8,5-8,9	25,7-27,3	52,7-55,1	32,5-33,5	14,1-16,52	70-150	6,15-7,69	5,97-7,15	0-40	1240-1560	0
	4-6sem	5,66-6,12	8,3-8,9	26,3-27,9	44,3	31,3-32,5	16,08-18,82	140-260	7,92-11,22	5,64-7,18	0	1220-1720	0
MINOVICH (2003)	2 sem	----	----	34-37	----	----	9-10	0-0,1	5-7	3-4	0	0-2000	0
	4 sem	----	----	26-27	----	----	14-17	0-0,2	6-8	6-7	0	1000	0
	6 sem	----	----	26-28	----	----	16-19	0-0,3	8-11	6-7	0	1000	0
	8 sem	----	----	29-31	----	----	16-20	0-0,3	6-8	8-11	0	1000	0

2.1.2 LEUCOGRAMA

Os leucócitos estão ausentes ou em pequeno número nos primórdios da vida fetal, mas a contagem total de leucócitos apresenta uma elevação durante toda a gestação, evoluindo de 880 células/ μ L aos 45 dias para 6.480 células/ μ L ao nascimento, quando a série branca exhibe um desvio à direita e uma porcentagem de linfócitos e monócitos maior em relação aos 45 dias de gestação (JAIN, 1993).

O feto apresenta, aos 45 dias, uma elevação do número de linfócitos correspondendo a 49%, enquanto o de neutrófilos diminui para 40% neste mesmo período. Nesta fase, também conhecida como “fase linfocítica”, a grande proporção de linfócitos se origina de órgãos linfóides como o timo e os linfonodos. Os valores atribuídos aos monócitos, durante os primeiros 25 dias de gestação e também ao nascimento, assemelham-se aos valores de adultos, e os eosinófilos não demonstram alterações dependentes da idade durante todo o período embriológico e fetal (TIEDEMANN, 1977).

Em relação à série branca, na grande maioria dos neonatos, mais de 60% dos valores de adultos são alcançados ao nascimento, representando uma completa maturação da medula óssea (TIEDEMANN & OOYEN, 1978).

Entre três a quatro meses, a leucometria total chega a atingir valores de 23.000, superiores aos de adultos, sendo a proporção de neutrófilos para linfócitos (N:L) de um para um (CLINKENBEARD & MEINKOTH, 2000). Segundo Hoskins (2001), embora ao nascimento a contagem esteja dentro dos limites estabelecidos para adultos, há leucocitose por neutrofilia e linfocitose, que se observa por volta dos três a quatro meses, e isto pode ser fisiológico, resultante da excitação da colheita.

Segundo Meyers-Wallen (1984), a contagem é mais baixa ao nascimento quando comparada aos adultos, apresentando uma elevação acentuada (acima dos valores de referência para adultos) por volta da segunda à oitava semana de idade. Este autor não descarta diferenças na resposta ao estresse da colheita e a possibilidade de infecções sub-clínicas. Por outro lado, Nakai et al. (1992) consideram que a contagem leucocitária em gatos, apresenta mudanças até por volta dos 18 meses de idade.

Particularidades no leucograma do gato adulto são também encontradas no período neonatal. A leucometria total e a contagem diferencial, em gatos são mais variáveis quando comparadas às do cão (CLINKENBEARD & MEINKOTH, 2000), e este fato está provavelmente associado à maior proporção do *pool* marginal de células em relação ao *pool* circulante (JAIN, 1986). A chamada “leucocitose neutrofílica fisiológica” reflete a redistribuição dos neutrófilos do *pool* marginal para o *pool* circulante, em resposta à liberação de adrenalina. Este efeito é transitório

e dura em média 30 minutos, sendo mais pronunciado nos felinos e principalmente em indivíduos jovens, resultante da excitação da contenção para venopunção (JAIN, 1993).

Gatos jovens têm uma alta contagem linfocítica, maior do que nos adultos ou indivíduos idosos. A linfocitose secundária à excitação ou ao medo (fisiológica), nos gatos jovens, encontra-se usualmente abaixo de 20.000 células/ μ L; contudo, há relatos de contagens superiores a 36.000 células/ μ L. Este quadro é transitório e de curta duração, e, se outra amostra for colhida, os valores absolutos de linfócitos tendem aos valores de referência. Com oito semanas de idade ou próximo ao período vacinal, uma linfocitose acompanhada da presença de linfócitos reativos pode ser também detectada como resultado da estimulação antigênica (JAIN, 1986; JAIN, 1993) e pode perdurar até a 17^a semana (MEYERS-WALLEN et al., 1984).

O sistema linfóide felino desenvolve-se por vários meses após o nascimento, fato este comprovado pela presença de linfopenia nos neonatos em relação aos adultos e pela inabilidade em montar uma resposta imune, celular e humoral, substancial diante de uma estimulação antigênica (SELLON, 1996).

Segundo Bortinick et al. (1999), a contagem total de leucócitos e linfócitos no primeiro, no 23°, no 46° e 90° dias de idade, é de 10.325-2.683, 7.677-3.953, 10.167-5.558 e 8.120-4.639 células/ μ L, respectivamente. Os gatinhos nascem também com diferenças nas sub-

populações CD4 e CD8 de linfócitos, demonstrando uma alta proporção de CD4 e CD8, tanto os circulantes como aqueles presentes nos órgãos linfóides como o timo e os linfonodos (SELLON, 1996).

Com exceção dos eosinófilos, cujo valor é mais elevado do que nos adultos, a contagem diferencial de monócitos e basófilos em neonatos encontra-se dentro dos valores de referência para adultos, segundo diversos autores (COLLES, 1984; MEYERS-WALLEN, 1984; JAIN, 1993; MURTAUGH, 1994; CLINKENBEARD & MEINKOTH, 2000; HOSKINS, 2001).

Os valores de referência para o eritrograma de gatos durante as fases neonatal e pediátrica estão descritos na tabela 1.

2.1.3. GLICEMIA, ALT E GGT

As diferenças entre os adultos e os neonatos, no que diz respeito à intensidade e à duração dos efeitos produzidos por um fármaco quando administrado na dose considerada ideal para adultos, podem ser atribuídas ao aumento da biodisponibilidade e distribuição dos fármacos durante o período neonatal. Diferenças na farmacocinética que ocorrem no neonato interferem na concentração plasmática e, conseqüentemente, na ação do fármaco (BAGGOT, 2001)

Algumas características do período neonatal incluem maior absorção de fármacos pelo trato gastrointestinal, menor capacidade de ligação com as proteínas plasmáticas (especialmente a albumina), menor

proporção entre a gordura corpórea e os fluídos (distribuição de substâncias lipofílicas), maior concentração de líquidos no compartimento extracelular (distribuição de substâncias hidrofílicas), permeabilidade elevada da barreira hematoencefálica, pH urinário tendendo a ácido e uma lenta eliminação de fármacos (maior meia-vida) (BAGGOT, 2001).

As particularidades na taxa de maturação das variáveis fisiológicas que influenciam a biodisponibilidade dos fármacos estão relacionadas com a espécie animal e a duração do período neonatal. O fígado é o órgão-chave envolvido nos processos metabólicos para desintoxicação e excreção de grande parte dos fármacos (HOSKINS, 1990).

O metabolismo hepático ocorre em duas fases: a fase I, também conhecida como não sintética ou degradativa, caracteriza-se por processos como a oxidação, a redução e a hidrólise. Nesta fase, os fármacos sofrem a ação catalítica das enzimas microssômicas localizadas no sistema citocromo P₄₅₀, tornando-os substâncias mais hidrossolúveis para a excreção renal. As reações da fase II são conhecidas como sintéticas, ou de conjugação, e envolvem a união do fármaco ou do produto oriundo da fase I a um componente endógeno (EVANS, 1994). As principais moléculas utilizadas nas reações de conjugação são o ácido glicurônico, o sulfato, a glutatona, a glicina, a cisteína, a glutamina, a taurina e grupos metil e acetil (SOUZA, 2002).

Muitas das dificuldades encontradas na estratégia terapêutica no gato são resultantes das particularidades do metabolismo he-

pático dos fármacos nesta espécie (EVANS, 1994). Algumas diferenças na disposição dos fármacos entre cães e gatos podem levar ao desenvolvimento de reações adversas, se o mesmo regime de dose for utilizado de forma indiscriminada (SOUZA, 2002).

A absorção e a distribuição de substâncias são similares para cães e gatos. Discretas diferenças são notadas na concentração plasmática, quando o mesmo regime terapêutico de dose é utilizado em ambas as espécies, em virtude das diferenças no volume sanguíneo (SOUZA, 2002).

Variações inerentes à espécie felina ocorrem na fase I e II do metabolismo hepático. De maneira geral, a atividade enzimática na fase I é inversamente proporcional ao tamanho ou peso corpóreo, de modo que quanto menor o peso corpóreo mais lento o metabolismo. Outra particularidade da espécie é verificada também na fase II, na qual o gato possui um déficit metabólico na conjugação com o ácido glicurônico (EVANS, 1994; SOUZA, 2004).

Além das particularidades inerentes à espécie felina, grande parte dos processos metabólicos é deficitária nos animais recém-nascidos, e a atividade metabólica se desenvolve progressivamente durante o período neonatal (BAGGOT, 2001).

Na grande maioria das espécies (ruminantes, suínos, caninos e provavelmente os felinos), as vias metabólicas associadas ao sistema microsomal hepático (reações de oxidação e conjugação com glu-

curonídeos) desenvolvem-se rapidamente durante as primeiras três a quatro semanas após o nascimento. Por volta da oitava a 12^a semanas de idade, a atividade aproxima-se aos níveis encontrados nos adultos (BAGGOT, 2001).

Durante o período neonatal, o sistema microssomal hepático P_{450} e o NADPH não estão bem desenvolvidos, e os fármacos que requerem estas reações da fase I são metabolizados mais lentamente. A mensuração da atividade do citocromo P_{450} em cães demonstrou um aumento de seis vezes na sua atividade nas primeiras quatro semanas de vida, sendo que nas duas primeiras semanas o aumento foi de quatro vezes. Ao nascimento, a oxidação é o processo metabólico mais desenvolvido, e as outras reações aumentam sua atividade rapidamente com o progredir da idade. As reações da fase II são pouco desenvolvidas ao nascimento, apresentando cerca de 1/3 a 1/4 da atividade dos adultos (PASCOE & MOON, 2001). A plenitude do desenvolvimento hepático é obtida somente ao redor do 4,5 meses de idade (McMICHAEL & DHUPA, 2000).

Embora existam poucos estudos disponíveis em neonatos das diversas espécies domésticas sobre a resposta clínica a alguns fármacos que requeiram metabolismo hepático, fica claro que há uma habilidade reduzida na desintoxicação durante esta fase tão crítica do desenvolvimento (McMICHAEL & DHUPA, 2000; PASCOE & MOON, 2001).

A imaturidade hepática no neonato não se resume apenas ao processo de desintoxicação dos fármacos, reflete-se também nos níveis glicêmicos. Os neonatos têm reservas limitadas de glicogênio e uma gliconeogênese hepática insuficiente como resposta aos estados de hipoglicemia (STURGESS, 2000).

A glicemia é mantida por um mecanismo complexo que envolve hormônios, enzimas hepáticas e a disponibilidade de substratos para a síntese de glicose. Quando os níveis de glicose decaem após a fase de absorção da digestão, a produção de glucagon pelas células pancreáticas assegura a mobilização da glicose hepática dos estoques de glicogênio (glicogenólise). Caso o estímulo para a produção hepática perca, outro processo agora se inicia, a chamada gliconeogênese. Nos estados iniciais de jejum, os níveis glicêmicos são mantidos em 75% pela glicogenólise e 25% pela gliconeogênese (HOSKINS, 2001).

O controle glicêmico é mantido também graças à ação dos hormônios contra-regulatórios como a adrenalina, o adrenocorticotrófico e o do crescimento (KANEKO, 1997).

A hipoglicemia transitória dos recém-nascidos é provavelmente a causa mais comum de hipoglicemia durante o período de amamentação e está freqüentemente associada a estoques inadequados de glicogênio ou de substratos protéicos ou por uma função enzimática hepática ainda imatura. Os fatores predisponentes incluem ninhadas pre-

maturas, nascimento de filhotes muito pequenos, fraqueza ou debilidade da fêmea gestante ou mesmo diabetes (HOSKINS, 2001).

Os neonatos são mais susceptíveis ao desenvolvimento de episódios hipoglicêmicos do que os adultos. Um fígado pequeno, uma menor massa muscular e uma grande massa encefálica em relação ao tamanho corpóreo são fatores que os predispõem (HOSKINS, 2001).

Os estoques de glicogênio hepático no neonato são mínimos e declinam rapidamente durante o jejum. Um estudo demonstrou que, as concentrações de glicogênio hepático, nos cães, decaem rapidamente por volta de 31% da concentração presente ao nascimento após 24 horas. A gliconeogênese, contudo, ocorre no fígado do neonato após nove horas sem alimentação. Os níveis de glicose sanguínea, em cães neonatos saudáveis são mantidos (inicialmente glicogenólise e posteriormente gliconeogênese) por 24 horas em jejum após o nascimento (POFFENBARGER et al., 1990).

As concentrações intra-hepáticas reduzidas de adenosina trifosfato (ATP) sugerem também que a produção e/ou a utilização de energia sofrem alteração somente após três horas de jejum nos cães recém-nascidos (POFFENBARGER et al, 1990). A glicemia pode ser mantida por um período de 24 horas de jejum, num neonato saudável; contudo os neonatos em situações de estresse, devido à depleção dos estoques de glicogênio e a imaturidade funcional hepática, tornam-se hipoglicêmicos (HOSKINS, 1990).

Os gatos assim como os cães recém-nascidos, não possuem os mecanismos de retroalimentação perfeitamente desenvolvidos entre a gliconeogênese e a concentração de glicose sanguínea. Os ajustes glicêmicos são, portanto, delicados. São relativamente insensíveis à insulina e possuem uma resposta inadequada aos hormônios hiperglicemiantes (adrenalina, glucagon, hormônio do crescimento e cortisol) (POFFENBARGER et al., 1990). A adrenalina, um dos hormônios contra-regulatórios essenciais na manutenção da glicemia, não é liberada em resposta à hipoglicemia nos neonatos caninos (McMICHAEL & DHUPA, 2000).

Ao nascimento, os neonatos felinos têm uma concentração de glicose sanguínea próxima aos valores maternos, contudo apresentam uma diminuição de 45 mg/dL entre as primeiras quatro a seis horas de vida e uma estabilização dos níveis em 70 mg/dL nas próximas 72 horas. A hipoglicemia sintomática nos gatos recém-nascidos é definida com níveis séricos abaixo de 50 mg/dL, representando risco de morte iminente (MINOVICH, 2003).

Como visto anteriormente, a imaturidade que perdura por vários meses após o nascimento faz da fase neonatal um período crítico de adaptação, no qual o neonato está suscetível a injúrias hepáticas tóxicas. Assim como no exame físico, a interpretação dos exames laboratoriais nos neonatos pode representar um desafio diagnóstico, particularmente pelo fato de os valores de referência para animais jovens de diferentes

idades, especialmente os gatos, não serem abundantes na literatura. A atividade enzimática sérica é um dos quesitos necessários para o diagnóstico das injúrias hepáticas.

A enzima alanina aminotransferase (ALT), responsável pela transaminação reversível da L-alanina e do 2-oxoglutarato em piruvato e glutamato, apresenta grande especificidade para lesões hepáticas, nas diversas espécies domésticas como os primatas, cães, gatos, coelhos e ratos. A atividade enzimática da ALT é confinada ao citoplasma da célula hepática, e elevações na atividade dessa enzima podem ser consideradas específicas para injúrias hepatocelulares. A meia-vida desta enzima é de aproximadamente 60 horas (KANEKO, 1997).

A ALT é uma enzima catalizadora capaz de transferir um grupo α -amino da alanina para o ácido cetoglutarato na formação do ácido pirúvico. É encontrada em grandes concentrações dentro do citoplasma do hepatócito e em concentrações menores e negligenciáveis no rim, no coração e na musculatura esquelética. A ALT, portanto, é a enzima mais específica na indicação de danos hepáticos, sem contudo fornecer informações adicionais sobre a função do órgão. Os gatos com grave disfunção hepática associada à cirrose biliar ou neoplasias podem exibir uma atividade enzimática normal, enquanto outros, com níveis séricos elevados de ALT, por uma injúria tóxica, podem apresentar uma função hepática normal e rapidamente se recuperarem (MURTAUGH, 1994).

Assim como nos adultos, a enzimologia pode ser utilizada como indicador laboratorial de dano hepático nos neonatos (HOSKINS, 2001). O conhecimento da fisiologia neonatal previamente descrita, em especial o desenvolvimento hepático, é necessário para uma interpretação adequada dos resultados obtidos.

Segundo Sturgess (2000), as enzimas microssomais hepáticas, envolvidas em muitas funções metabólicas, como a biotransformação dos fármacos, não estão plenamente funcionais até por volta dos quatro a cinco meses após o parto, apesar do desenvolvimento da função hepática próxima do normal ao redor da oitava semana de vida.

Os valores séricos da ALT em gatos com duas e quatro semanas de idade são de 11 a 24 (UI/L) e 14 a 26 (UI/L) respectivamente, embora mais baixos do que os valores considerados para os adultos de 28 a 91(UI/L) (HOSKINS, 2001) (Tabela – 2).

Kraft et al. (1995) citam que os valores séricos das enzimas hepáticas sofrem influências decorrentes da idade. Nos gatos, essa influência é notada principalmente na determinação da ALT, aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FA), lactato desidrogenase (LDH), amilase e lipase. Em gatos, a atividade enzimática da ALT, do nascimento aos três meses de idade, é por volta de 30 (UI/L), dos três aos seis meses, 35 (UI/L), e dos seis aos 12 meses, 41 (UI/L).

Mahler & Neumann (1996), em um estudo realizado em gatos durante os primeiros seis meses de vida, demonstraram o perfil en-

zimático da amilase, lipase, ALT, AST, GGT, FA, e LDH, e encontraram valores acima e abaixo dos descritos na literatura. A atividade sérica da ALT apresentou uma elevação de acordo com a progressão da idade, evoluindo de $32,44 \pm 7,92$ (UI/L) entre seis a oito semanas de idade, para $48,41 \pm 14,04$ (UI/L) da nona a 24^a semanas.

A GGT é uma carboxipeptidase de membrana capaz de clivar o grupo terminal glutamil de substratos sintéticos, e transferi-los para peptídeos e outros receptores como a glicil-glicina. Esta enzima catalisa a transferência de grupos gama-glutamil dos gama-glutamilpeptídeos, como a glutatona, para outros peptídeos e aminoácidos. Todas as células do organismo, exceto a muscular, têm atividade enzimática para GGT no citoplasma e na membrana celular, e grandes quantidades são encontradas no epitélio tubular renal e dos ductos biliares. Os níveis séricos basal e hepático desta enzima são muito baixos em cães, gatos e ratos, quando comparado ao dos ruminantes e eqüinos (KANEKO, 1997).

Nos humanos, os níveis séricos normais de GGT podem funcionar como um indicador precoce do estresse oxidativo, demonstrando importantes implicações clínicas e epidemiológicas, uma vez que a mensuração desta enzima é acessível e de baixo custo. Os níveis séricos enzimáticos são inversamente proporcionais aos níveis de antioxidantes endógenos (LIM, et al. ,2004)

Nas desordens colestáticas há elevação dos níveis séricos enzimáticos de GGT em todas as espécies, sendo esta enzima mais

sensível para a detecção dessas desordens do que a FA. A presença de GGT sérica ocorre mais como resultado do incremento de sua síntese do que por escape celular (PEARSON, 1990), e seu acréscimo é primariamente dependente da magnitude da hiperplasia biliar (KANEKO, 1997).

Nas espécies bovina, ovina e canina, a GGT pode ser encontrada também em grandes quantidades no colostro, e conjuntamente com os anticorpos maternos é absorvida pela mucosa intestinal, servindo como indicadora da falha de transferência passiva de imunidade (KANEKO, 1997). A atividade de GGT no dia do nascimento, após a ingestão de colostro, é cinco vezes superior aos encontrados cinco dias após o parto em neonatos caprinos (BOSTEDT et al., 1997).

Na espécie canina, a atividade sérica da GGT e também da FA, em filhotes de um a 10 dias de idade, é cerca de 20 a 25 vezes maior do que nos animais adultos. Esta elevação tão acentuada é provavelmente de origem placentária, colostral e/ou intestinal, e por volta de 10 a 14 dias após o parto essa atividade diminui. O colostro é rico em GGT e FA, e há a possibilidade de que essas enzimas sejam absorvidas por meio deste ou pelo trato intestinal durante os primeiros dias de vida. Alternativamente, a ingestão do colostro pode estimular o crescimento intestinal e a produção enzimática. Portanto, os níveis séricos de GGT e FA funcionam mais como um indicador da ingestão adequada do colostro do que o diagnóstico dos danos hepáticos, nos primeiros quinze dias de vida, nos cães (McMICHAEL & DHUPA, 2000; HOSKINS, 2001).

A atividade da GGT não pode ser utilizada para a verificação da passagem de imunidade passiva para gatos neonatos segundo Hoskins (2001). De acordo com Kraft et al. (1995), Mähler & Neumann (1996), os valores de GGT em gatos, a partir da segunda semana de vida, são muito semelhantes aos de adultos, ou seja, entre zero a três UI/L, portanto não sofrem influência da idade nesta espécie.

TABELA 2 - Valores de referência para Alanina aminotransferase, Gama glutamiltransferase e glicose para neonatos felinos saudáveis segundo os diversos autores.

AUTORES	FAIXA ETÁRIA	ALT (UI/L)	GGT (UI/L)	GLICOSE (mg/dL)
PETERSON (1983)	ADULTOS	10,0-80,0	0,3-0,2	-
KANEKO (1997)	ADULTOS	6,0-83,0	1,3-5,1	73-134
KRAFT (1995)	0-3 meses	30	3,1	-
MÄHLER (1996)	6-8 sem 9-24 sem	32,44 48,41	0 0	- -
HOSKINS (2001)	2 sem 4 sem	11,0-24,0 14,0-26,0	0-3,0 0-3,0	76-129 99-112
MOON (2001)	2 sem 4 sem	18,0 16,0	1,0 2,0	117,0 110,0
MINOVICH (2003)	2 sem 4 sem	11-24 14-26	--- ---	76-129 99-112

2.1.4 PROTEÍNAS TOTAIS E PROTEINOGRAMA

As proteínas são constituintes essenciais para todas as células do organismo e correspondem a cerca de 18% do peso corporal dos animais, e grande parte da síntese protéica é realizada pelo fígado. Constituem um grupo de moléculas heterogêneas que atuam na formação das estruturas celulares, na manutenção da pressão colóido-osmótica, na catalização de reações bioquímicas (enzimas), na regulação hormonal, na coagulação sanguínea e na defesa humoral como anticorpos (KANEKO, 1997).

Cerca de 40% a 50% dos requerimentos energéticos dos carnívoros dependem ou derivam das proteínas oriundas da dieta e de seus aminoácidos. Nos animais jovens, cuja demanda nutricional energética é maior, quando comparada à dos adultos, as necessidades protéicas também são diferentes (CLINKENBEARD & MEINKOTH, 2000).

Dentre os fatores que influenciam a concentração das proteínas plasmáticas, a idade exerce um papel importante e peculiar. Durante o período fetal, a concentração total sérica de proteínas apresenta-se reduzida em decorrência dos baixos índices das imunoglobulinas e da albumina, e pela imaturidade inerente ao próprio feto dos sistemas imunológico e hepático (ABBAS, 2000; KANEKO, 1997). Segundo Yamada et al. (1991), a concentração de proteína total sérica, em fetos de gatos com cinco a oito semanas de gestação e nos neonatos antes da ingestão do

colostro, é cerca de 3,0 g/dL ($\pm$ 0,8) e 4,05 g/dL ($\pm$ 0,5), respectivamente. A concentração de proteína total nas fêmeas gestantes é de 6,9 g/dL ($\pm$ 1,5-0,2). Segundo os autores, o feto não sintetiza imunoglobulinas na ausência de estimulação antigênica, como, por exemplo, uma infecção viral (KANEKO, 1997; TIZARD, 1998; 2000; ABBAS, 2000).

Após o nascimento, a ingestão do colostro assegura a transferência da imunidade passiva e colabora para a elevação dos níveis séricos protéicos no neonato. O colostro é formado pelo acúmulo de secreções na glândula mamária no terço final da gestação, e por imunoglobulinas, sendo produzido sobre a influência do estrógeno e da progesterona. Sua constituição, portanto, é rica em imunoglobulinas (Ig) do tipo IgG, IgA e IgM, e, nas diversas espécies domésticas, a IgG é que mais predomina (TIZARD, 1998; 2000).

Nos neonatos, a presença de um nível menor de atividade proteolítica no sistema digestório e de inibidores da tripsina presentes no colostro colabora para a absorção das proteínas colostrais de maneira intacta. O período de absorção protéica pela mucosa intestinal varia entre as espécies, mas de modo geral, a permeabilidade é mais alta imediatamente após o nascimento, sofrendo um lento declínio após seis horas (TIZARD, 2000).

Nos neonatos felinos, após a ingestão do colostro, os valores de IgG, IgA e de IgM se elevam rapidamente, e os valores atribuídos a IgG, um a dois dias após a ingestão, ultrapassam aqueles dos adultos.

A partir do terceiro dia de vida, há o início do declínio das imunoglobulinas IgG, IgA e IgM atingindo o ponto mais baixo de concentração por volta de 20 a 25 dias, 14 a 20 dias e oito a 10 dias, respectivamente (YAMADA et al., 1991).

Portanto, a concentração protéica sérica apresenta uma elevação de acordo com a idade, e os valores de adultos são atingidos somente a partir dos seis meses a um ano de idade, dependendo da espécie (JAIN, 1993). Os valores atribuídos à proteína total nos gatos neonatos por McMichael (2000) e Hoskins (2001), com duas a quatro semanas de idade, foram de 4,4 mg/dL e 4,8 mg/dL, respectivamente. Os mesmos autores utilizam, como valores de referência para gatos adultos, a faixa de 5,8 a 8,0 mg/dL (Tabela – 3).

A proteína total plasmática e a albumina são mais baixas nos neonatos devido à grande expansão do volume plasmático, quando comparada à síntese hepática protéica (MINOVICH, 1993). O fígado é o grande responsável pela síntese de albumina, globulinas e dos fatores de coagulação; contudo, por sua imaturidade, que persiste até por volta do quinto mês de idade, acaba por contribuir para os baixos níveis protéicos neonatais (POFFENBARGER, 1990).

A imaturidade renal comprovada pela nefrogênese imperfeita até a terceira semana de idade também colabora para os níveis protéicos reduzidos no neonato. As concentrações de proteínas, glicose e aminoácidos, presentes na urina dos neonatos, são mais elevadas do que

nos adultos. Estudos comparativos entre filhotes de cães com cinco dias de idade e adultos indicaram que os neonatos têm defeitos na reabsorção de aminoácidos. Somente a partir de oito semanas de idade, a reabsorção tubular de aminoácidos equivale à de um adulto. Um desenvolvimento renal semelhante é sugerido para os neonatos felinos (POFFENBARGER, 1990).

Assim, como os níveis séricos de proteína total variam no neonato, certas diferenças nas diversas frações protéicas entre jovens e adultos da mesma espécie podem ser notadas. A eletroforese é um método valioso para a determinação quantitativa das proteínas séricas, sendo de particular importância para a avaliação dos níveis de gamaglobulinas presentes no soro. O processo utilizado para a separação e quantificação é baseado na migração das partículas protéicas num campo elétrico. A direção e a velocidade da migração de partículas são baseadas no tipo de carga, tamanho e intensidade do campo elétrico e das proteínas (CELM, 1999).

O fracionamento das proteínas séricas pela técnica de eletroforese representa hoje um padrão de referência na bioquímica, sendo seu amplo uso justificado pela variedade de alterações que ocorrem nas frações protéicas nos vários estados fisiológicos (períodos de gestação, de lactação, neonatal) e nas diversas enfermidades (KANEKO, 1997).

Na maior parte das condições patológicas que envolvem as proteínas plasmáticas, as alterações abrangem não apenas uma de-

terminada proteína, mas um grupo razoavelmente amplo dos componentes protéicos, dando lugar a quadros mais característicos dos processos fisiopatológicos. Assim as análises eletroforéticas mantêm uma posição de considerável utilidade clínica, oferecendo a oportunidade de uma interpretação mais correta do quadro, especialmente quando se consideram, conjuntamente, as informações clínicas adequadas (CELM, 1999).

A nomenclatura estabelecida para as diversas frações foi descrita com base na mobilidade relativa e também nas concentrações relativas e absolutas para cada fração identificada. A albumina, a proteína mais abundante do soro, constitui entre 35%-50% das proteínas séricas totais. O papel mais importante da albumina é sua função metabólica de se ligar e transportar outras substâncias. Praticamente todos os constituintes do plasma não necessitam ser transportados por uma proteína específica e são transportados pela albumina (KANEKO, 1997).

A alfa-globulina é a fração que apresenta migração mais rápida quando comparada com outras globulinas e grande parte de sua síntese é feita pelo fígado e sua concentração aumenta nos traumas e no decorrer de estados febris. Tem duas sub-frações alfa₁ e alfa₂ que exercem mesmas funções, sendo que, entre as alfa-globulinas, estão a haptoglobina, ceruloplasmina, amilina (SAA) e α -lipoproteínas (lipoproteínas de alta densidade), caracterizadas como proteínas de fase aguda (KANEKO, 1997).

A concentração sérica de beta-globulina geralmente aumenta durante a gestação e nas doenças hepáticas. Entre os seus componentes mais importantes estão: os complementos (C3, C4), hemopexina, transferrina, proteína C reativa e o fibrinogênio. Algumas imunoglobulinas como IgM e IgA apresentam migração das regiões β_2 e γ_2 ; conseqüentemente, na presença de estímulos antigênicos ou de processos neoplásicos as imunoglobulinas podem se originar tanto da região β_2 como γ_1 e γ_2 (KANEKO, 1997; JAIN, 1986).

A fração gama das globulinas é dividida em duas frações γ_1 (rápida) e γ_2 (lenta) em grande parte das espécies domésticas, sendo as imunoglobulinas IgA, IgM e IgE encontradas na região γ_1 e IgG na região γ_2 (KANEKO, 1997). Segundo um estudo feito por Kim (2000), a alteração mais significativa encontrada com a mudança de idade foi nas frações de gama-globulinas.

A eletroforese sérica tem sido utilizada com grande frequência, e, na espécie felina, uma ampla variação no padrão eletroforético normal tem sido descrita (KRISTENSEN & BARSANTI, 1977; BAKER & VALLI, 1988). A mobilidade das frações protéicas, nesta espécie, parece ser mais rápida quando comparada com outras espécies, como a bovina e a eqüina (KEAY, 1982). Furukawa & Sugiyama (1986), pela técnica de imunoeletroforese, identificaram cerca de 21 frações na espécie felina.

Kristensen & Barsanti (1977), utilizando o método de eletroforese por gel agarose, detectaram a presença de oito frações protéi-

cas no soro de gatos com idade superior a seis meses de idade e de duas populações distintas (gatis de pesquisa e de proprietários). Os valores encontrados para proteína total, albumina, alfa, beta e gama globulinas foram respectivamente, 6,61 g/dL, 2,65 g/dL, 1,49 g/dL, 0,93 g/dL e 1,56 g/dL.

Segundo Keay (1982), os valores absolutos das frações protéicas em gatos adultos são de 7,46 g/dL para proteína total, 3,41 g/dL para albumina, 1,54 g/dL para alfa-globulina, 0,93 para beta-globulina e 1,58 g/dL para gama-globulina. Os valores determinados por Buening (1988), também para gatos adultos, foram ligeiramente inferiores aos encontrados pelo autor anterior, com a proteína total de 6,2 g/dL, albumina de 3,0g/dL, alfa-globulina de 1,43 g/dL, beta-globulina de 0,52 g/dL e gama-globulina de 1,26 g/dL (Tabela – 3).

Os valores absolutos para o proteinograma sérico de gatos adultos, descritos por Kaneko (1997), são de 5,4-7,8 ($6,0 \pm 7,0$) g/dL para proteína total, 2,1-3,3 ($2,7 \pm 1,7$) g/dL para albumina, 0,6-2,2 ($0,7 \pm 0,02$) g/dL para alfa-globulina, 0,9-1,9 ($0,7 \pm 0,02$) g/dL para beta-globulina e 1,7- 4,4 ($1,7 \pm 0,36$) g/dL para gama-globulina. Baker & Valli (1988) descreveram o proteinograma para gatos adultos, no qual os valores encontrados foram de 7,27 g/dL para proteína total sérica, 3,62 g/dL para albumina, 1,32 g/dL para alfa-globulina, 0,93 g/dL para beta e 1,40 para gama-globulina.

O padrão eletroforético de gatos, em algumas condições patológicas como as moléstias infecciosas e neoplasias é útil para o diagnóstico (MURTAUGH, 1994). O eletroforetograma encontrado em gatos adultos, com peritonite infecciosa felina foi de 14,3 g/dL para proteína total, 0,74 g/dL para alfa-globulina, 2,50g/dL para beta-globulina e 8,83 para gama-globulina (JAIN, 1993).

Num estudo feito por Chuang (2001), usando a eletroforese para análise das proteínas séricas, comparando-se cães jovens com adultos, demonstrou-se que a fração alfa₁-globulina em cães jovens (22,4%) foi mais alta que nos adultos (14,3%). Em contrapartida, as frações alfa₂, beta₁, beta₂ e gama-globulinas, nos animais jovens apresentaram valores mais baixos. Cães de um dia de idade, antes da ingestão do colostro não apresentavam a gama-globulina; no entanto, logo após a ingestão, a concentração de gama-globulina aumentou e rapidamente diminuiu. A partir da terceira semana de vida (21 dias), a concentração de gama-globulina começou a aumentar lentamente com o avançar da idade.

Um estudo sobre o fracionamento eletroforético em cães da raça Beagle, a partir de duas semanas até um ano de idade, concluiu que durante os primeiros dois a três meses de idade, há uma elevação dos níveis séricos de proteína total e albumina. Neste estudo, observou-se também uma queda na porcentagem de alfa₁-globulina juntamente com a elevação da albumina nas primeiras seis semanas, elevando deste modo também a proporção albumina-globulina (A:G), atingindo um pico

por volta da sexta a oitava semana. Após este período, houve uma queda da proporção A:G em consequência da elevação das globulinas (gama, α_2 e β_2 -globulina) (WOLFORD et al., 1988)

Segundo Barioni (2003), o proteinograma de caprinos e em outras espécies, durante a fase neonatal e pediátrica demonstrou certas particularidades. Os valores de albumina apresentaram um acréscimo até por volta dos 60 dias de idade, quando a partir de então se estabilizaram. Este comportamento foi também descrito em bezerros por Borges (1997) e por Costa (2000). Já a concentração de alfa-globulina apresentou-se elevada ao nascimento e a de beta-globulina sofreu uma elevação até o 15º dia quando então se estabilizou. A fração gama-globulina apresentou um acréscimo após a ingestão do colostro e, posteriormente, um decréscimo dos valores até os 15 dias, permanecendo estáveis até os 60 dias, quando a partir de então tenderam a aumentar.

A variação na fração protéica de gama-globulina em caprinos, descrita acima por Barioni (2003) foi observada também em bezerros por Fagliari (1988) e por Costa (2000).

TABELA 3 - Valores de referência para a proteína e o proteinograma para gatos neonatos do presente segundo os diversos autores.

AUTORES	FAIXA ETÁRIA	PROTEÍNA SÉRICA (g/dL)	ALBUMINA	ALFA-GLOBULINA	BETA-GLOBULINA	GAMA-GLOBULINA
KEAY (1982)	Adultos	7,46	3,41	1,54	0,93	1,58
BUENING (1988)	Adultos	6,2	3,0	1,43	0,52	1,26
BAKER & VALLI (1988)	Adultos	7,27	3,62	1,32	0,93	1,40
KANEKO (1997) (acetato de celulose)	Adultos	5,4-7,8	2,1-3,3	0,6-2,0	0,9-1,9	1,7-2,4
KRISTENSEN & BAR-SANTI (1977)	>6 meses	6,61	2,65	1,49	0,93	1,56
McMICHAEL (2000)	2-4 sem	4,0-5,2	2,0-2,4	---	---	---
HOSKINS (2001)	2-4 sem	4,8	---	---	---	---

2.2. INFLUÊNCIA DA LUTEÍNA

Uma alteração da resposta imunológica, mediante aos estímulos antigênicos, na tentativa de torná-la mais eficaz diante dos desafios, pode ser obtida com a utilização de imunomoduladores ou da imunoterapia. A maneira mais simples consiste em estimular inespecificamente o sistema imunológico. Obviamente, qualquer melhora na capacidade imunológica do recém-nascido durante o período neonatal tenderá a potencializar sua resistência aos diversos agentes infecciosos, após o término da proteção conferida pelo colostro.

Durante um estímulo antigênico, a resposta imune inicial à infecção é montada, graças a um sistema complexo que utiliza como arma os radicais de oxigênio. Inicialmente, a produção desses radicais é benéfica; contudo, durante a eliminação do agente patogênico, ocorrem uma produção excessiva e, conseqüentemente, uma injúria aos próprios leucócitos bem como às células vizinhas ou aos tecidos adjacentes (HARPER, 2001).

Recentemente tem-se questionado a eficácia dos β -carotenos e de outros carotenóides quanto a sua atividade imunomodulatória em humanos e animais. Estudos prévios sobre a ação biológica desses compostos têm tido como foco principalmente o β -caroteno. Contudo, na última década, o interesse sobre a atividade imunorregulatória de outros carotenóides, como a luteína, licopeno, astaxantina e cantaxantina,

têm aumentado (BENDICH & SHAPIRO, 1986; JYONUCHI et al., 1995; CHEW et al., 1996).

Os carotenóides representam um grupo abundante de pigmentos amplamente distribuídos na natureza (PARK, 1998). A contribuição dos carotenóides na diminuição do câncer em humanos foi primeiramente descrita por Peto et al. (1981). Desde então, numerosos estudos epidemiológicos têm proposto a importância desses pigmentos, presentes nas frutas e nos vegetais, na diminuição da incidência de doenças crônicas como o câncer de próstata, de pulmão e de mama (HARRIS et al., 1991; FLAGG et al., 1995; POPPEL & GOLDBOHN, 1995).

Os carotenóides são conhecidos principalmente por suas funções pró-vitamina A, embora somente 10% dos carotenóides as tenham (CHEW, 1993). Os mamíferos domésticos perderam a capacidade de sintetizar os carotenóides e alguns estudos demonstram que os carnívoros não os absorvem, ou pelo menos não em quantidades suficientes (KIM, 2000b).

Cerca de 60 tipos diferentes de carotenos têm sido identificados nos alimentos ingeridos por humanos e animais; contudo, o número de pigmentos presentes nos tecidos e no soro é limitado, chegando a 34 tipos. Os principais pigmentos presentes nos tecidos são os carotenóides de hidroxicarbonos como: o α (alfa) e β (beta) carotenos e o licopeno; e os oxicarotenóides xantofila como a β (beta) criptoxantina e o dihidroxido xantofila, luteína e zeaxantina. Dessa maneira, os carotenóides podem

ser divididos em duas categorias distintas: os hidroxicarbonos (α , β caroteno e o licopeno) precursores da vitamina A, e os oxicarotenóides tendo como principal representante a luteína sem atividade pró-vitamina A (HENK, 1999).

As xantofilas, como a luteína e a zeaxantina, são carotenóides que não têm atividade pró-vitamina A, mas exercem uma ação biológica específica, diminuindo o desenvolvimento de neoplasias, agindo como antioxidantes, melhorando a função imunológica (CHEW et al., 1996) e evitando a degeneração macular da retina (PARK et al., 1998).

Recentemente, o cão e o gato domésticos têm sido propostos como modelo experimental para o estudo da função imunomodulatória dos carotenóides. Estudos em animais permitem uma comparação direta entre os carotenóides com (beta-caroteno) e sem (luteína) atividades pró-vitamina A. A espécie felina como modelo experimental é de especial interesse para a demonstração da atividade imunomodulatória dos carotenóides dietéticos, particularmente porque esta espécie não é capaz de convertê-los em vitamina A (PARK et al., 1999)

A luteína é um carotenóide que se apresenta sob a forma de um pó amarelado, obtido a partir do extrato das flores de *Tagetes erecta*. A sua fórmula molecular é $C_{40}H_{56}O_2$ e apresenta o peso molecular de 568.88 daltons, o ponto de fusão de 190°C e os cristais amarelos em forma de prisma com brilho metálico deste carotenóide, cristalizam-se em presença de éter e metanol. Atualmente, a luteína pode ser encontrada no

mercado, embutida sob a forma não esterificada (purificada) em uma ampla gama de complexos vitamínicos. Sua utilização vem sendo difundida mundialmente pelos benefícios propostos no tratamento da degeneração macular da retina nos humanos, causa líder de cegueira no mundo ocidental (KEMIN FOODS, 1999).

Embora a forma não esterificada da luteína seja mais purificada e por isso incorporada em grande parte aos suplementos vitamínicos, os oxicarotenóides, cujo principal representante se encaixa a luteína, estão presentes na maioria das frutas, vegetais e flores sob a forma esterificada juntamente com ácidos graxos (KEMIN FOODS, 1999). Segundo Subagio & Morita (2001), a esterificação dos grupos oxidrila (OH) com ácidos graxos não interfere na atividade antioxidante da luteína.

A luteína tem uma potente ação antioxidante, inibindo a auto-oxidação dos lipídios celulares e impedindo o dano oxidativo à célula (PARK et al., 1998). Em humanos, altas concentrações de luteína plasmática aumentaram a expressão de receptores para estrógenos nas células tumorais e promoveram, conseqüentemente, um aumento da taxa de sobrevivência e melhora da resposta à terapia com hormônios (MAYNE, 1996; ROCK et al., 1996). Ratos submetidos à suplementação dietética com luteína tiveram uma redução no crescimento de tumores mamários transplantados e um aumento na proliferação de linfócitos (CHEW, 1995; CHEW et al., 1996; 1998; PARK et al., 1998).

Estudos sobre os efeitos do ácido retinóico e da luteína nos tumores de células epiteliais mamárias *in vitro*, demonstraram que ambos aumentaram a mortalidade das células epiteliais mamárias com tumores, mas não interferiram na cinética das células epiteliais normais. A luteína também aumentou a sensibilidade das células tumorais a agentes quimioterápicos. O estudo sugere um potencial efeito quimio-terapêutico da luteína em tumores de células epiteliais mamárias (KEMIN FOODS, 1999).

Nos humanos, a luteína e a zeaxantina são absorvidas mais rapidamente quando comparadas ao β -caroteno (GARTNER et al., 1996), e interações entre os metabólitos durante e após a absorção desses carotenóides têm sido demonstradas ou sugeridas nos estudos sobre suplementação dietética em animais e em humanos (HENK, 1999).

Várias pesquisas, utilizando a luteína em cães, comprovaram que esta é capaz de estimular a reação de hipersensibilidade tardia, o número de linfócitos T CD₄ e a produção de imunoglobulina IgG, demonstrando deste modo que, um carotenóide sem atividade pró-vitamina A, exercia efeitos imunomodulatórios similares ao do β -caroteno. A luteína provou também ser capaz de estimular a proliferação de linfócitos induzida por mitógenos, ação esta não característica do β -caroteno (KIM, 2000a).

A suplementação com a luteína em cães promoveu uma estimulação das respostas imunológicas celular e humoral por meio do

aumento da resposta proliferativa dos linfócitos, aumento na porcentagem de CD5, CD4 e CD8 e de IgG após a estimulação antigênica (KIM, 2000a).

Nos gatos, a suplementação dietética com β -caroteno ou com luteína também exibiu um aumento da reação de hipersensibilidade tardia, do número das sub-populações de linfócitos T helper e B e uma elevação da concentração plasmática de imunoglobulinas IgG (KIM, 2000b).

A ação da luteína nos neonatos de diversas espécies permanece obscura. Um estudo avaliando a imunidade celular em neonatos caninos suplementados com luteína a 20%, durante 45 dias, demonstrou que esta suplementação não produziu mudanças quantitativas nas sub-populações de linfócitos T no período neonatal (KLEIN, 2004).

A modulação das respostas imunológicas celular e humoral, em gatos com 10 meses de idade, foi obtida após a suplementação diária por 12 semanas com a concentração de um, cinco e 10 mg de luteína. Nessa espécie, a luteína aumentou a porcentagem de CD4 e CD21, sem exercer efeito na população total de linfócitos, CD8 e de IgG (KIM, 2000b). Outro estudo utilizando a suplementação dietética com antioxidantes como a luteína, o β -caroteno e a vitamina E, em cães a partir da sexta semana de idade, demonstrou um aumento da produção de anticorpos após desafio vacinal e uma maior resposta imune celular-mediada (MASSIMINO, 2001).

As concentrações plasmáticas de luteína são dose-dependentes. Num estudo sobre a absorção da luteína, administrada por via oral em gatos, observaram-se uma elevação dos níveis plasmáticos dessa e a transferência da luteína para os linfócitos e neutrófilos circulantes (CHEW et al., 1998).

Pesquisas recentes sugerem que a suplementação dietética com antioxidantes como a luteína, particularmente em gatos idosos, exerce muitos efeitos benéficos no sistema imunológico, como um maior título de anticorpos e uma maior proliferação de linfócitos mediante a estimulação com concanavalina A (HARPER, 2001).

A absorção dos carotenóides é realizada pelo duodeno juntamente com os lipídeos presentes na dieta. Os ésteres dos carotenóides como a luteína e a criptoxantina sofrem hidrólise pela enzima hidrolase éster carboxílica secretada pelo pâncreas, sendo então incorporados juntamente com os ácidos biliares, ácidos graxos livres, monoglicerídeos e fosfolipídeos em micelas (BOREL et al., 1996).

A absorção pelo enterócito ocorre por difusão passiva e depende do gradiente de concentração entre a micela e a membrana celular. Após a absorção, os oxicarotenóides são incorporados em quilomícrons e secretados nos vasos linfáticos, onde, para facilitar a solubilidade no sangue, se combinam com proteínas plasmáticas formando complexos mais estáveis como as lipoproteínas de alta e baixa densidade (PETERSON, 1983). As lipoproteínas de alta densidade (HDL), predominam com cerca de 53% do transporte dos oxicarotenóides (luteína e zeaxantina),

em contrapartida as de baixa densidade (LDL) e as de muito baixa densidade (VLDL) são responsáveis pelo transporte de 31% e 16%, respectivamente (PARKER, 1996).

A interação entre os principais carotenóides nos animais tem sido pesquisada desde a década de 50. Pesquisadores forneceram dietas com diferentes níveis de β -caroteno e luteína a ratos e utilizaram os depósitos de vitamina A no fígado como principal meio de mensuração da absorção de β -caroteno. Após a suplementação, a diminuição dos níveis de vitamina A hepática foi observada quando a proporção β -caroteno : luteína era menor que um; contudo, proporções maiores que um representavam níveis maiores de vitamina A no fígado (HIGH, 1951).

Um estudo realizado em ratos demonstra que a incorporação da luteína ao plasma e aos tecidos (fígado e baço) ocorre de maneira rápida, cerca de três dias após o início da suplementação dietética (PARK, 1998). Num estudo semelhante realizado em gatos, a concentração de luteína plasmática aumentou progressivamente de acordo com o aumento da dose, atingindo a concentração máxima seis horas após a administração. A meia-vida da luteína foi de cerca de 20 horas, e não foram observadas alterações concomitantes nos níveis de vitamina A plasmática (CHEW et al., 1996).

Dentro da ampla gama de ações da luteína, encaixam-se também a capacidade de inibição do crescimento de tumores mamários e a diminuição do desenvolvimento de tumores quando estes foram trans-

plantados, em ratos (PARK et al., 1998). A suplementação dietética com luteína foi capaz de prevenir as mudanças nas subpopulações de linfócitos associadas ao processo tumoral. Sua capacidade antitumoral e a ação imunomodulatória sugerem o envolvimento de eventos subcelulares como apoptose, angiogênese e regulação genética (CHEW & PARK, 2004).

Brown et al. (2001) verificaram que a luteína diminuiu a apoptose dos leucócitos de camundongos com tumores transplantados e, ao mesmo tempo, induziu a apoptose das células tumorais. Estes estudos demonstram a ação seletiva da luteína, diminuindo a apoptose das células imunes e aumentando a das células tumorais.

O mecanismo de ação da luteína para o decréscimo de tumores mamários ocorre por meio da regulação de genes específicos envolvidos na proliferação e na diferenciação de células hematopoiéticas, assim como, na apoptose como mencionado acima. A luteína age de forma seletiva, aumentando a expressão do RNAm de genes considerados pró-apoptose, como o p53 e o BAX, diminuindo os genes antiapoptose como o Bcl-2 e, conseqüentemente, aumentando a proporção BAX/Bcl-2 nos tumores. Esta via é independente da atividade mitocondrial e, portanto, dos produtos reativos do oxigênio (BROW et al., 2001)

A funcionalidade dos carotenóides é determinada por sua localização subcelular. Estudos realizados em gatos (PARK et al., 1999) demonstraram a absorção da luteína, administrada por via oral, pelas organelas celulares como a mitocôndria, ácido nucléico e microssomos dos linfócitos circulantes, e a maior concentração da luteína estava presente

na mitocôndria. A mitocôndria utiliza cerca de 85% do oxigênio consumido pela célula para gerar ATP, sendo, portanto, a mais importante fonte de radicais reativos de oxigênio. Esta organela celular é chave para a imunidade e para doença, e a localização dos carotenóides nesta estrutura é de particular relevância. A presença de luteína nas organelas subcelulares pode promover uma proteção das células imunes contra injúrias oxidativas e assegurar uma função celular adequada, incluindo processos como a apoptose, a transdução celular e a regulação genética (SHIGENAGA et al., 1994)

Os carotenóides são capazes de influenciar a função imunológica pela sua habilidade em regular a fluidez da membrana e as comunicações juncionais. Evidências sugerem que a ação destes carotenóides na imunidade e na doença pode ser mediada, ao menos em parte, por sua capacidade antioxidante. Contudo, a ação dos radicais de oxigênio é multifacetada; se, por um lado, estes são tóxicos aos componentes celulares, por outro são moléculas sinalizadoras importantes envolvidas na expressão genética, no crescimento e na morte celular (CHEW & PARK, 2004).

3. Materiais e Métodos



A pesquisa foi desenvolvida sob orientação do Prof. Dr. Flávio Quaresma Moutinho, no Gatil Maternidade do Serviço de Clínica de Pequenos Animais e no Laboratório de Patologia Clínica sob supervisão da Profa. Dra. Regina Kiomi Takahira, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de Botucatu,

3.1 OBTENÇÃO DOS FILHOTES

Foram adquiridas dez gatas adultas gestantes, sem raça definida (SRD), pesando em média três a quatro quilos, provenientes do gatil da Faculdade de Medicina Veterinária da Fundação de Ensino Octávio Bastos – São João da Boa Vista, São Paulo. As gatas foram mantidas no gatil maternidade da FMVZ (Unesp/Botucatu), em jaulas individuais de ferro galvanizado esmaltado, forradas com jornal, contendo comedouro, bebedouro e caixa sanitária para a deposição das excretas (urinas e fezes), e expostas ao sol diariamente nos períodos da manhã e da tarde. As gatas foram inicialmente tratadas com anti-helmíntico de amplo espectro¹, na dose de 50mg/kg de peso de fembendazole e depois uma vez ao

¹ Panacur® Plus comprimidos – Hoechst Vet

mês, e previamente vacinadas² contra panleucopenia, rinotraqueíte, calicivirose, leucemia e *Chlamydia psittaci*.

Todos os animais adultos utilizados durante o experimento foram previamente avaliados quanto à possibilidade de serem portadores de leucemia e imunodeficiência felinas³. Animais positivos para estas enfermidades não foram utilizados neste experimento.

A alimentação das gestantes foi realizada *ad libitum* com ração⁴ comercial para filhotes em crescimento, cuja composição suplementava as suas necessidades calóricas. A água, sempre fresca e limpa, também foi dada à vontade. As gatas foram avaliadas semanalmente por meio de exames físicos para acompanhamento do estado de saúde segundo protocolo descrito por Murtaugh (1994), e com exames complementares como hemograma, urinálise e exames parasitológicos de fezes. Os dados referentes aos exames físicos e os resultados laboratoriais foram anotados em fichas individuais para cada gata.

A previsão da data do parto foi estipulada pelas anotações das fichas e por meio de exames ultra-sonográficos. Os filhotes foram separados das mães após o desmame completo que ocorreu por volta dos 30 dias de vida.

² FEL-O-VAX LVK® - Fort Dodge

³ SNAP®-FeLV /FIV COMBO Teste – IDDEX

⁴ Wiskas® - Waltham

3.2 CUIDADOS COM OS NEONATOS

Os animais foram submetidos ao exame físico neonatal indicado por HOSKINS (2001), durante os nove primeiros dias de vida e, posteriormente, semanalmente até completarem 38 dias de idade. Os filhotes eram pesados semanalmente (Figura 4) em balança⁵ de uso doméstico desde o primeiro dia de vida. Para a identificação, cada filhote teve um bracelete confeccionado com esparadrapo colocado na região metacarpiana do membro torácico direito.



FIGURA 4 - Pesagem do neonato

⁵ Balança para Cozinha® - Braun

Os recém-nascidos foram mantidos na companhia de suas respectivas mães em caixas-maternidade (Figura – 5) individuais com as seguintes características:

Material: plástico branco rígido

Dimensões: 50 cm de comprimento, 30 cm de largura e 10 cm de altura

Forração: jornal previamente exposto ao sol.

Por volta do 15º dia de idade, administrou-se a todos os filhotes, por via oral, o anti-helmíntico pirantel e oxantel⁶, na dose de 1 mL/Kg de peso em dose única. O desmame gradativo dos filhotes foi iniciado a partir do 21º dia de idade, quando estes já demonstraram interesse por alimento sólido. Com 30 dias de vida, os filhotes foram separados de suas mães e passaram a receber ração⁷ comercial para gatos.

⁶ Panacur plus cães e gatos®- Intervet

¹⁰ Wiskas® - Waltham



FIGURA 5 - Caixa maternidade

3.3 METODOLOGIA DA PESQUISA

O experimento foi realizado em um período de 38 dias a partir do terceiro dia de nascimento, a fim de abranger amplamente o período neonatal.

Nessa pesquisa, foram utilizados 20 filhotes recém-nascidos, machos e fêmeas (10 machos e 10 fêmeas) a partir do 3º dia de vida, divididos em dois grupos experimentais com 10 animais em cada um.

Grupo controle (GC): neste grupo composto por cinco machos e cinco fêmeas, os animais não foram submetidos a qualquer tratamento. Foram realizadas as colheitas de sangue semanais de sangue

na veia jugular para as respectivas avaliações laboratoriais (hemograma, enzimas hepáticas, glicemia, proteinograma).

Grupo tratado com luteína (GL): neste grupo (cinco machos e cinco fêmeas), a luteína na dose de 10 mg/1mL de óleo de milho foi administrada por via oral com auxílio de uma seringa, diariamente, no período da manhã, sempre no mesmo horário a partir do 3º dia do nascimento até completarem 30º dia de vida. As colheitas sanguíneas e os exames laboratoriais foram realizados sempre previamente à administração da luteína. A luteína foi administrada somente até o 31º de idade (M5). Na sexta semana (M6), realizou-se então a última colheita a fim de se detectar um possível efeito da suspensão da administração do imunógeno, nos exames realizados.

Os neonatos foram imobilizados por contenção manual e o sangue colhido a partir do terceiro dia de vida, e em seguida semanalmente com 10, 17, 24, 31 e 38 dias de idade (M1, M2, M3, M4, M5 e M6), para realização dos exames laboratoriais.

3.4. PREPARAÇÃO DO IMUNÓGENO

Foi utilizada a luteína⁸ (Figura 6), ressuspensa em óleo, adquirida já sob esta forma em farmácia de manipulação. Este procedimento visou proporcionar maior estabilidade ao produto, evitando sua oxidação precoce. Dessa forma, foi utilizado o óleo de milho, que é bem tolerado pelos neonatos.



FIGURA 6 - Imunógeno Luteína

⁸ Luteína - pHD®-Farmácia de Manipulação

3.5. COLHEITA DAS AMOSTRAS

O sangue foi colhido por venopunção da jugular (Figura – 7), com agulha 25 X 7 e seringa de 1mL após a antissepsia do local com clorexidine a 2%. O volume de sangue colhido foi de 2 mL, suficiente para ser utilizado nas avaliações. O sangue foi separado em alíquotas dentro de eppendorfs, sendo 1 mL com o anticoagulante ácido etilenodiaminotetracético⁹ (EDTA) a 10% e 1 mL sem anticoagulante para a separação do soro. As amostras foram colhidas pela manhã para eliminar possíveis efeitos da variação circadiana, e anteriormente à suplementação com luteína.



FIGURA 7 - Colheita de sangue da veia jugular em um neonato

⁹ Vetec®

3.6. PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

As análises laboratoriais como o hemograma e a glicemia foram realizadas logo em seguida à colheita. As determinações das enzimas hepáticas e a eletroforese das proteínas séricas, por sua vez, foram feitas posteriormente com o soro que até então permaneceu estocado à temperatura de - 20°C em freezer comum.

3.6.1 HEMOGRAMA

Os frascos devidamente identificados foram imediatamente encaminhados, logo após a colheita, ao Laboratório de Patologia Clínica para realização dos exames no contador automático de células¹⁰ (Figura 8) e contagem diferencial de leucócitos em esfregaços sanguíneos corados pelo método de *May-Grunwald – Giemsa*.

A dosagem de hemoglobina foi realizada pelo método de cianometahemoglobina. O volume globular foi determinado pelo método do microhematócrito (COLES, 1984). A determinação da concentração plasmática das proteínas foi realizada por refratometria (JAIN, 1993).

¹⁰ Contador Automático de células Cell Dyn® - Modelo 3200



FIGURA 8 - Contador automático de células Cell-Dyn

3.6.2. EXAMES BIOQUÍMICOS

As amostras sanguíneas para realização dos exames bioquímicos foram colhidas em vacutainer com tampa amarela (com gel separador de soro) e deixadas em repouso por 30 minutos. A partir de então foram centrifugadas e armazenadas em alíquotas de 0,3 mL em eppendorfs a -20° C até o momento do processamento. Após o descongelamento das amostras, estas foram processadas no mesmo dia para mensuração das seguintes substâncias:

3.6.2.1 Glicemia

A glicemia foi realizada por meio da determinação com glucômetro¹¹ utilizando-se cerca de dois microlitros de sangue total logo após a colheita (Figura 9).



FIGURA 9 - Aparelho para medição da glicemia

¹¹ Aparelho para medição da glicemia *Accu-Chek Active®* (Roche)

3.6.2.2. Alanina aminotransferase (ALT) e gama glutamyltransferase (GGT)

A ALT foi determinada pelo método otimizado cinético em UV¹² e a GGT pelo método cinético colorimétrico por reação com a p-nitroanilina¹³.

3.6.2.3 Proteínas totais e proteinograma

A concentração sérica de proteína foi determinada por meio da reação de Biureto¹⁴ e pelo método colorimétrico.

A separação das frações protéicas foram realizadas mediante a técnica de eletroforese em gel agarose¹⁵. A placa de gel foi embebida numa solução tampão veronal com pH 9,5, e colocada numa cuba de eletroforese (Figura 10) ligada a uma fonte de corrente elétrica de 100 milivolts durante 40 minutos. Após a corrida, a coloração das placas (Figura 11) foi realizada em negro de amido 0,2 % por cinco minutos e imersa em ácido acético glacial a 5% por mais cinco minutos para a fixação. A leitura foi feita no densitômetro¹⁶ em 520 nm (Figura 12).

¹² ALT (GTP) CELM

¹³ Gama GT-CELM

¹⁴ Labtest-Celm

¹⁵ Celmigel

¹⁶ Densitômetro Celm – Modelo DS - 35



FIGURA 10 - Cuba de eletroforese Celm

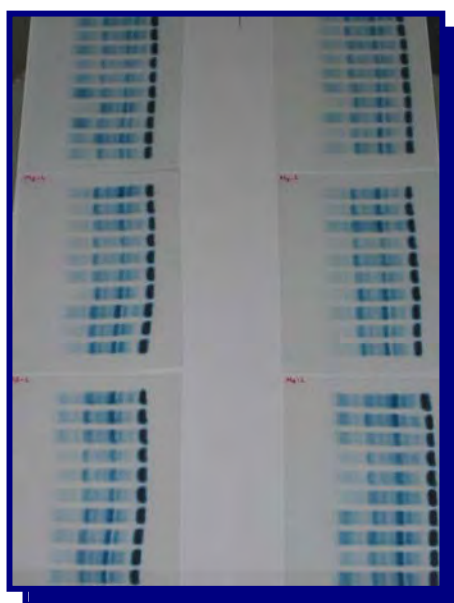


FIGURA 11 - Placas de eletroforese



FIGURA 12 - Densitômetro DS – 35

3.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para obtenção das estatísticas descritivas para as variáveis dos hemogramas, das enzimas hepáticas e dos proteinogramas, utilizou-se o procedimento computadorizado PROC MEANS¹⁷ (SAS, 1995). Nas análises que consideraram os efeitos principais de tratamentos (grupo controle *versus* grupo que recebeu luteína) e momentos (semanas de avaliação), bem como a interação entre os efeitos principais de tratamentos e momentos, adotou-se o procedimento PROC ANOVA do programa supracitado, por meio do seguinte modelo:

$$y_{ijk} = \mu + t_i + m_j + tm_{ij} + e_{ijk}$$

em que,

y_{ijk} = valor para as variáveis dos hemogramas, das enzimas hepáticas e dos proteinogramas do animal k , no momento j e que recebeu o tratamento i ;

μ = constante inerente a todas observações;

t_i = efeito do i -ésimo tratamento, sendo $i = 1$ (grupo controle) e 2 (grupo tratado com luteína);

m_j = efeito do j -ésimo momento de avaliação, sendo $j = 3, 10, 17, 24, 31$ e 38 dias;

¹⁷ Statistical Analysis System®, versão 8.0 (SAS, 1995)

$\mathbf{tm}_{ij}$ = efeito da interação do tratamento i com o momento j ;

$\mathbf{e}_{ijk}$ = efeito aleatório residual associado às variáveis dos hemogramas, dos exames bioquímicos e dos proteinogramas do animal k , no momento j e que recebeu o tratamento i ; com média 0 e variância σ_e^2 .

Quando verificados efeitos significativos ($P < 0,05$) nas análises de variância entre os efeitos principais, aplicou-se o Teste de Tukey para discriminar as possíveis igualdades ou diferenças entre tratamentos e os momentos. Em caso de interações significativas ($P < 0,05$), procedeu-se ao desdobramento do efeito dos tratamentos dentro dos diferentes momentos.

4. Resultados



4.1. ERITROGRAMA

Os resultados das análises de variância (ANOVA) para cada variável do eritrograma (contagem total de eritrócitos, hemoglobina, volume globular, VCM, CHCM e proteína total), segundo o efeito dos tratamentos (controle e luteína), em cada momento avaliado (três, 10, 17, 24, 31 e 38) e também segundo a existência de interação entre os tratamentos versus momento, estão dispostos na tabela 4.

Diferenças estatísticas foram encontradas segundo o efeito do tratamento sobre as seguintes variáveis: hemoglobina, volume globular e proteína total plasmática, como disposto na tabela 5 das médias de quadrados mínimos.

Todas as variáveis do eritrograma apresentaram diferenças estatísticas significantes em cada momento avaliado, como demonstrado na tabela 6 das médias de quadrados mínimos.

Os resultados em média e desvio-padrão das variáveis do eritrograma no grupo controle e luteína, em cada momento da observação, estão dispostos nas tabelas 7, 8, 9, 10, 11, 12 e nos gráficos 1, 2, 3, 4, 5, 6 respectivamente.

TABELA 4 - Resultados das análises de variância para o Eritrograma.

Fontes de Variação	Graus de Liberdade	Quadrados Médios					
		Eritro	Hgb	VG	VCM	CHCM	Ptn
Tratamentos (T)	1	1,78x10 ¹² n.s.	15,39 *	60,21 *	7,50 n.s.	4,25 n.s.	44,65**
Momentos (M)	5	7,08x10 ¹² **	107,37 **	884,90 **	2796,97**	64,58*	4,44*
Interação T x M	5	3,83x10 ¹¹ n.s.	1,90 n.s.	12,74 n.s.	54,18 n.s.	5,82 n.s.	0,37 n.s.
Resíduo	108	4,89 x10 ¹¹	2,49	13,02	48,95	27,99	1,83

n.s. = resultado não-significativo (P>0,05) pelo Teste F; * = resultado significativo no nível de 5% (P<0,05) pelo Teste F; ** = resultado significativo no nível de 1% (P<0,01) pelo Teste F.

TABELA 5 - Médias de quadrados mínimos para hemoglobina, volume globular e proteína plasmática, segundo o tratamento administrado.

Tratamentos	Médias de Quadrados Mínimos		
	Hgb	VG	Ptn
Controle	8,03 ^a	24,15 ^a	6,65 ^a
Luteína	8,75 ^b	25,57 ^b	7,87 ^b

Médias seguidas por pelo menos uma mesma letra em uma mesma coluna não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade (P>0,05) pelo Teste de Tukey.

TABELA 6 - Médias de quadrados mínimos para eritrócito, hemoglobina, volume globular volume corpuscular médio concentração de hemoglobina corpuscular média e proteína plasmática, segundo os momentos avaliados.

Momentos	Médias de Quadrados Mínimos					
	Eritro (x 10 ⁶ /μL)	Hgb (g/dL)	VG (%)	VCM (fL)	CHCM (%)	Ptn (g/dL)
3	4,81 ^a	12,96 ^a	37,80 ^a	78,66 ^a	33,72 ^{a b}	6,96 ^{a b}
10	3,45 ^b	8,52 ^b	24,35 ^b	71,49 ^b	33,66 ^{a b}	6,76 ^{a b}
17	3,66 ^b	7,58 ^{b c}	21,85 ^{b c}	60,29 ^c	33,17 ^{a b}	6,85 ^{a b}
24	3,73 ^b	6,97 ^c	19,65 ^c	53,73 ^d	35,86 ^a	7,82 ^a
31	4,05 ^b	6,82 ^c	20,70 ^c	49,15 ^d	33,53 ^{a b}	7,78 ^a
38	4,82 ^a	7,50 ^{b c}	24,80 ^b	51,38 ^d	30,26 ^b	7,39 ^{a b}

Médias seguidas por pelo menos uma mesma letra em uma mesma coluna não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade (P>0,05) pelo Teste de Tukey.

TABELA 7 - Médias e desvios-padrão do número de eritrócitos ($\times 10^6 / \mu\text{l}$), em gatos neonatos, com três, 10, 17, 24, 31 e 38 dias de idade, nos grupos controle (GC) e suplementado (GL) com o carotenóide luteína.

	Momentos (dias)					
	3	10	17	24	31	38
GC	4,54 $\pm$ 6,91	3,15 $\pm$ 2,54	3,69 $\pm$ 4,69	3,71 $\pm$ 5,44	3,93 $\pm$ 4,17	4,78 $\pm$ 7,56
GL	5,09 $\pm$ 4,83	3,75 $\pm$ 5,91	3,63 $\pm$ 4,92	3,75 $\pm$ 7,16	4,17 $\pm$ 7,48	4,86 $\pm$ 5,68

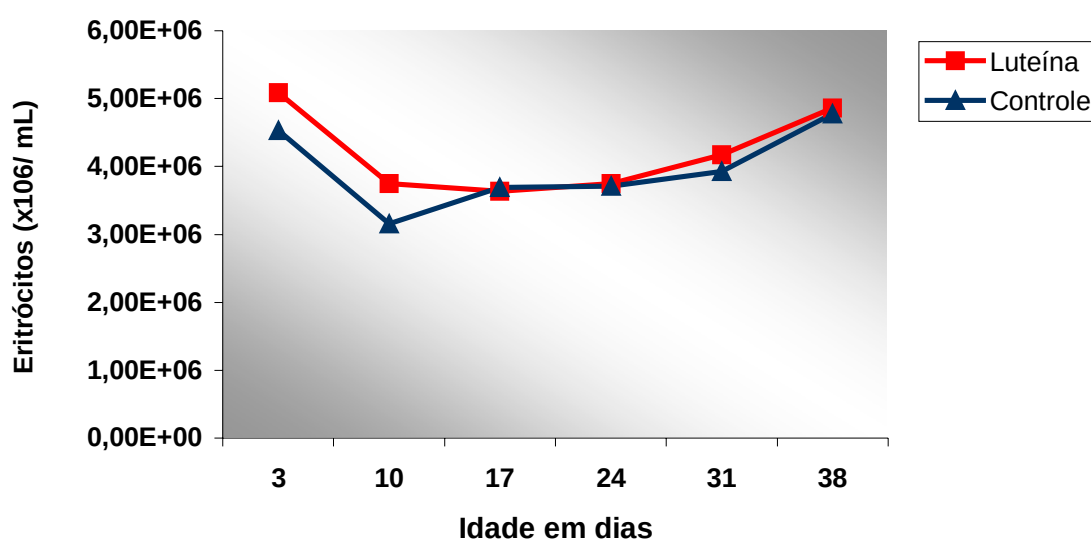


GRÁFICO 1 - Valores médios do número de eritrócitos ($\times 10^6 / \mu\text{l}$), em gatos neonatos, com três, 10, 17, 24, 31 e 38 dias de idade, nos grupos controle (GC) e suplementado (GL) com o carotenóide luteína.

TABELA 8 - Médias e desvios-padrão da concentração de hemoglobina (g/dL), em gatos neonatos, com três, 10, 17, 24, 31 e 38 dias de idade, nos grupos controle (GC) e suplementado (GL) com o carotenóide luteína.

	Momentos (dias)					
	3	10	17	24	31	38
GC	12,13±2,00	7,94±0,97	7,22±0,90	6,80±1,51	6,84±1,25	7,30±0,64
GL	13,80±1,66	9,11±2,08	7,95±2,21	7,16±1,65	6,81±1,60	7,70±1,64

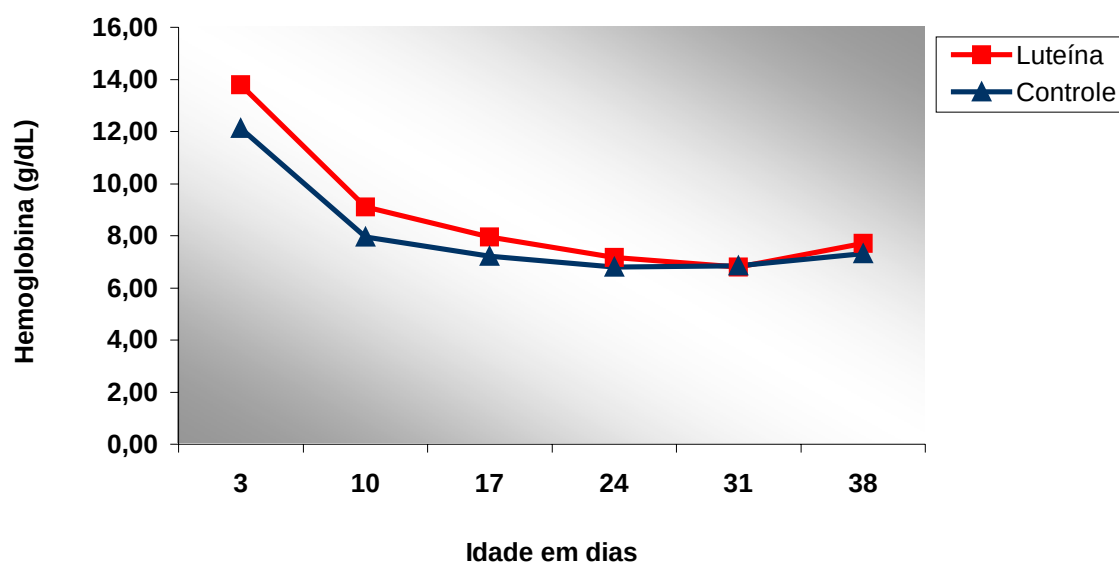


GRÁFICO 2 - Valores médios da concentração de hemoglobina (g/dL), em gatos neonatos, com três, 10, 17, 24, 31 e 38 dias de idade, nos grupos controle (GC) e suplementado (GL) com o carotenóide luteína.

TABELA 9 - Médias e desvios-padrão do volume globular (%), em gatos neonatos, com três, 10, 17, 24, 31 e 38 dias de idade, nos grupos controle (GC) e suplementado (GL) com o carotenóide luteína.

	Momentos (dias)					
	3	10	17	24	31	38
GC	35,8±5,98	23,10±5,98	21,40±2,46	19,00±2,87	20,80±4,47	24,80±2,66
GL	39,80±4,37	25,60±1,26	22,30±2,21	20,30±4,03	20,60±4,62	24,80±3,58

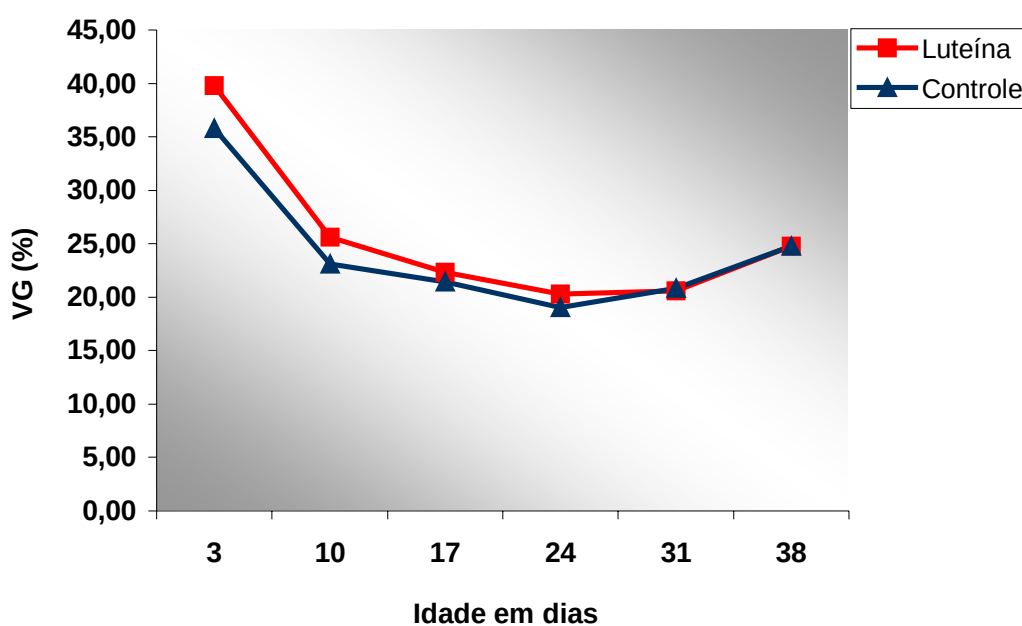


GRÁFICO 3 - Valores médios do volume globular (%), em gatos neonatos, com três, 10, 17, 24, 31 e 38 dias de idade, nos grupos controle (GC) e suplementado (GL) com o carotenóide luteína.

TABELA 10 - Médias e desvios-padrão do volume corpuscular médio - VCM (fL), em gatos neonatos, com três, 10, 17, 24, 31 e 38 dias de idade, nos grupos controle (GC) e suplementado (GL) com o carotenóide luteína.

	Momentos (dias)					
	3	10	17	24	31	38
GC	78,99±6,08	73,56±6,86	58,43±7,32	51,41±6,03	48,74±5,64	52,56±6,38
GL	78,33±5,44	69,43±9,24	62,16±8,39	56,06±8,09	49,56±7,17	51,15±6,22

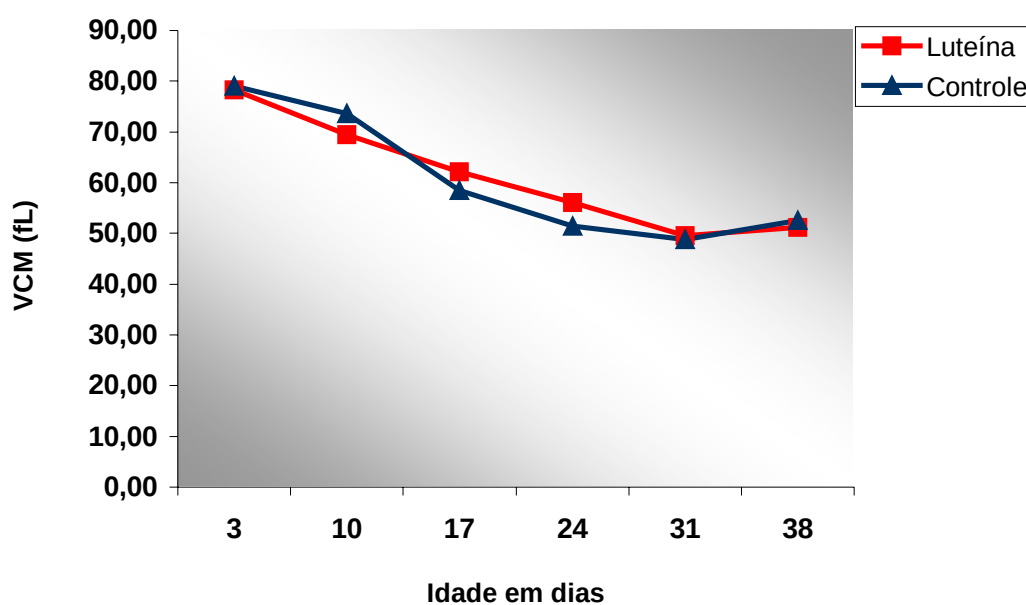


GRÁFICO 4 - Valores médios do volume corpuscular médio - VCM (fL), em gatos neonatos, com três, 10, 17, 24, 31 e 38 dias de idade, nos grupos controle (GC) e suplementado (GL) com o carotenóide luteína.

TABELA 11 - Médias e desvios-padrão da concentração de hemoglobina corpuscular média - - CHCM (g/dL), em gatos neonatos, com três, 10, 17, 24, 31 e 38 dias de idade, nos grupos controle (GC) e suplementado (GL) com o carotenóide luteína.

	Momentos (dias)					
	3	10	17	24	31	38
GC	33,87±1,47	34,38±3,84	33,92±5,00	36,05±8,33	33,61±7,37	29,53±1,91
GL	33,58±2,33	32,95±1,47	32,43±1,87	35,68±8,62	33,46±7,40	31,00±5,16

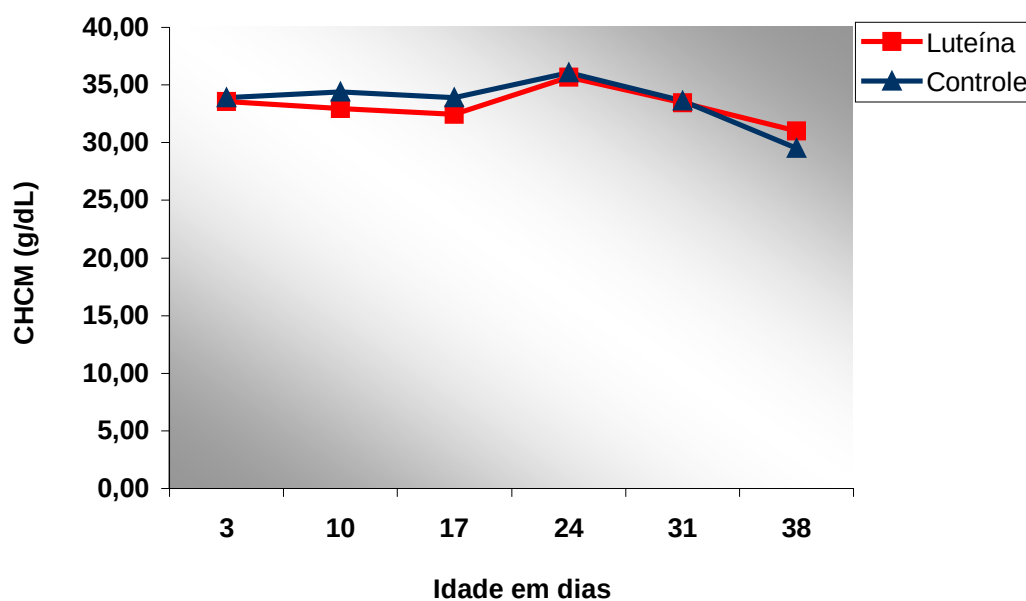


GRÁFICO 5 - Valores médios da concentração de hemoglobina corpuscular média - CHCM (g/dL), em gatos neonatos, com três, 10, 17, 24, 31 e 38 dias de idade, nos grupos controle (GC) e suplementado (GL) com o carotenóide luteína.

TABELA 12 - Médias e desvios-padrão da concentração de proteína plasmática (g/dL), em gatos neonatos, com três, 10, 17, 24, 31 e 38 dias de idade, nos grupos controle (GC) e suplementado (GL) com o carotenóide luteína.

	Momentos (dias)					
	3	10	17	24	31	38
GC	6,44±1,25	6,24±0,98	6,34±2,03	6,98±1,50	7,07±1,71	6,84±1,60
GL	7,48±1,73	7,28±1,26	7,37±0,87	8,66±0,77	8,50±0,71	7,94±1,09

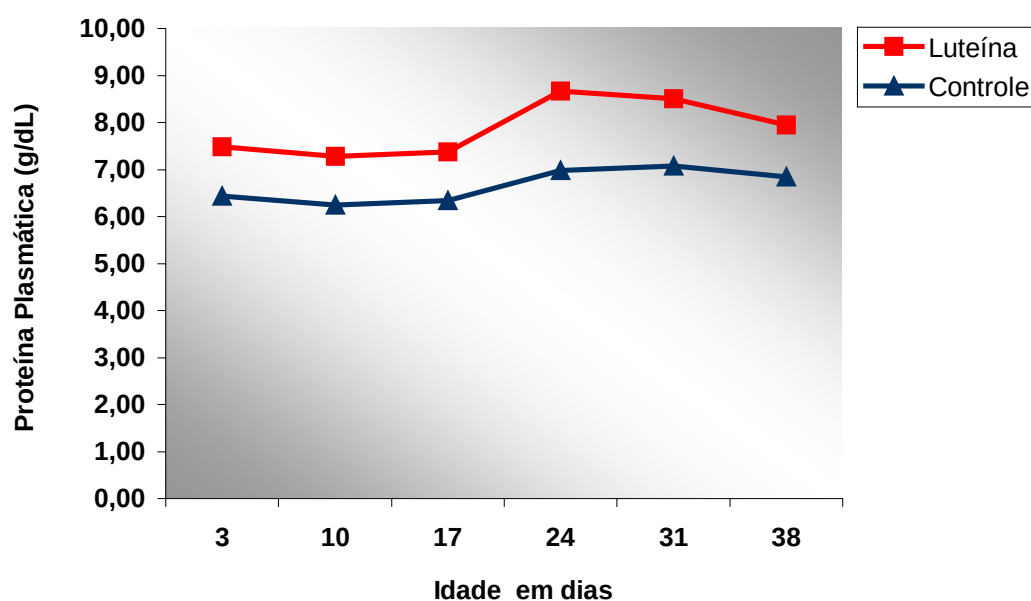


GRÁFICO 6 - Valores médios da concentração de proteína plasmática (g/dL), em gatos neonatos, com três, 10, 17, 24, 31 e 38 dias de idade, nos grupos controle (GC) e suplementado (GL) com o carotenóide luteína.

4.2. LEUCOGRAMA

Os resultados das análises de variância (ANOVA) para cada variável do leucograma (contagem total de leucócitos, metamielócitos, bastonetes, neutrófilos, linfócitos, eosinófilos, basófilos e monócitos), nos valores absolutos e relativos, segundo o efeito dos tratamentos (controle e luteína), em cada momento avaliado (três, 10, 17, 24, 31 e 38) e também segundo a existência de interação entre os tratamentos versus momento, estão dispostos na tabela 13.

No efeito do tratamento sobre as variáveis basófilos (valor absoluto) e monócitos (valor relativo), foi constatada diferença estatística significativa ($P < 0,01$), e o grupo tratado com luteína exibiu discreta elevação quando comparado ao grupo controle, como disposto na tabela 14 das médias de quadrados mínimos.

As seguintes variáveis: contagem total de leucócitos, neutrófilos (absoluto e relativo), linfócito (relativo), eosinófilos (absoluto e relativo), basófilos (relativo e absoluto) e monócito (relativo) apresentaram diferenças estatísticas significantes em cada momento avaliado, como demonstrado na tabela 15 das médias de quadrados mínimos.

Os resultados em média e desvio-padrão das variáveis do leucograma no grupo controle e luteína, em cada momento da observação, estão dispostos nas tabelas 16, 17, 18, 19, 20 e 21 nos gráficos 7, 8, 9, 10, 11, 12 respectivamente.

TABELA 13 - Resultado das análises de variância para o leucograma

Fontes de Variação	Tratamentos (T)		Momentos (M)		Interação T x M		Resíduo
Graus de Liberdade	1		5		5		108
Quadrados Médios							
	Relativo	Absoluto	Relativo	Absoluto	Relativo	Absoluto	Absoluto
Leucócitos	---	45,08x10 ⁶ n.s.	---	215,53x10 ⁶ *	---	11,27x10 ⁶ n.s.	52,15x10 ⁶
Metamielócitos	0,41 n.s.	4,45x10 ⁴ n.s.	0,41 n.s.	3,91x10 ⁴ n.s.	0,37 n.s.	3,57x10 ⁴ n.s.	1,98x10 ⁴
Bastonetes	6,53 n.s.	73,16x10 ⁴ n.s.	10,57 n.s.	78,48x10 ⁴ n.s.	3,77 n.s.	26,08x10 ⁴ n.s.	47,02x10 ⁴
Neutrófilos	86,70 n.s.	54,54x10 ⁶ n.s.	1007,40 **	103,07x10 ⁶ **	111,72 n.s.	7,25x10 ⁶ n.s.	25,35x10 ⁶
Linfócitos	8,53 n.s.	2,65x10 ⁵ n.s.	1123,03 **	7,34x10 ⁵ n.s.	99,35 n.s.	11,48x10 ⁵ n.s.	33,66x10 ⁵
Eosinófilos	10,20 n.s.	6,45x10 ⁵ n.s.	80,75 *	23,00x10 ⁵ *	14,41 n.s.	1,35x10 ⁵ n.s.	5,80 x10 ⁵
Basófilos	2,70 n.s.	25,09 x10 ⁴ *	4,24 *	9,89x10 ⁴ *	0,98 n.s.	3,07x10 ⁴ n.s.	3,89 x10 ⁴
Monócitos	16,13 *	1,68 x10 ⁵ n.s.	9,61 *	4,75x10 ⁵ n.s.	1,65 n.s.	3,00x10 ⁵ n.s.	3,22 x10 ⁵

n.s. = resultado não-significativo ($P > 0,05$) pelo Teste F; * = resultado significativo no nível de 5% ($P < 0,05$) pelo Teste F; * = resultado significativo ao nível de 1% ($P < 0,01$) pelo Teste F.

TABELA 14 - Médias de quadrados mínimos para basófilos e monócitos, segundo o tratamento administrado.

Tratamentos	Médias de Quadrados Mínimos			
	Basófilos		Monócitos	
	Relativo	Absoluto	Relativo	Absoluto
Controle	1,15 ^a	115,62 ^b	2,33 ^b	284,80 ^a
Luteína	1,45 ^a	207,07 ^a	1,60 ^a	359,60 ^a

Médias seguidas por pelo menos uma mesma letra em uma mesma coluna não diferem entre si no nível de 5% de probabilidade (P>0,05) pelo Teste de Tukey.

TABELA 15 - Médias de quadrados mínimos para leucócitos, neutrófilos, linfócitos, eosinófilos, basófilos e monócitos, segundo os momentos avaliados.

Momentos	Médias de Quadrados Mínimos									
	Leucócitos		Neutrófilos		Linfócitos		Eosinófilos		Basófilos	
	Relativo	Absoluto	Relativo	Absoluto	Relativo	Absoluto	Relativo	Absoluto	Relativo	Absoluto
3	42,35 ^c	3.061,00 ^b	44,30 ^a	3.247,70 ^a	9,60 ^{ab}	757,50 ^b	1,85 ^a	182,30 ^{ab}	1,55 ^b	166,00 ^a
10	41,80 ^c	5.382,00 ^{ab}	46,70 ^a	4.911,40 ^a	6,40 ^b	594,30 ^b	1,60 ^{ab}	215,25 ^{ab}	1,50 ^b	205,40 ^a
17	45,40 ^{bc}	6.041,00 ^{ab}	37,85 ^{ab}	3.802,70 ^a	12,40 ^{ab}	1.524,80 ^a	1,05 ^{ab}	98,05 ^{ab}	1,85 ^{ab}	433,60 ^a
24	48,80 ^{abc}	6.902,00 ^{ab}	37,00 ^{ab}	4.648,70 ^a	9,20 ^{ab}	1.060,20 ^{ab}	0,55 ^b	66,20 ^b	1,85 ^{ab}	299,10 ^a
31	59,60 ^a	8.966,00 ^a	28,15 ^b	3.915,20 ^a	7,80 ^{ab}	1.037,50 ^{ab}	1,50 ^{ab}	252,30 ^a	1,70 ^b	255,20 ^a
38	54,55 ^{ab}	9.001,00 ^a	29,60 ^b	4.092,20 ^a	9,35 ^{ab}	1.287,50 ^{ab}	1,25 ^{ab}	153,95 ^{ab}	3,35 ^a	574,00 ^a

Médias seguidas por pelo menos uma mesma letra em uma mesma coluna não diferem entre si no nível de 5% de probabilidade (P>0,05) pelo Teste de Tukey.

TABELA 16 - Médias e desvios-padrão do número de leucócitos ($\times 10^3 / \mu\text{l}$), em gatos neonatos, com três, 10, 17, 24, 31 e 38 dias de idade, nos grupos controle (GC) e suplementado (GL) com o carotenóide luteína.

	Momentos (dias)					
	3	10	17	24	31	38
GC	7,54 $\pm$ 2,32	10,6 $\pm$ 5,00	12,25 $\pm$ 8,63	12,55 $\pm$ 6,74	14,70 $\pm$ 6,85	14,73 $\pm$ 7,20
GL	6,93 $\pm$ 1,43	12,47 $\pm$ 6,92	11,54 $\pm$ 6,92	14,35 $\pm$ 8,65	17,41 $\pm$ 11,33	17,08 $\pm$ 8,65

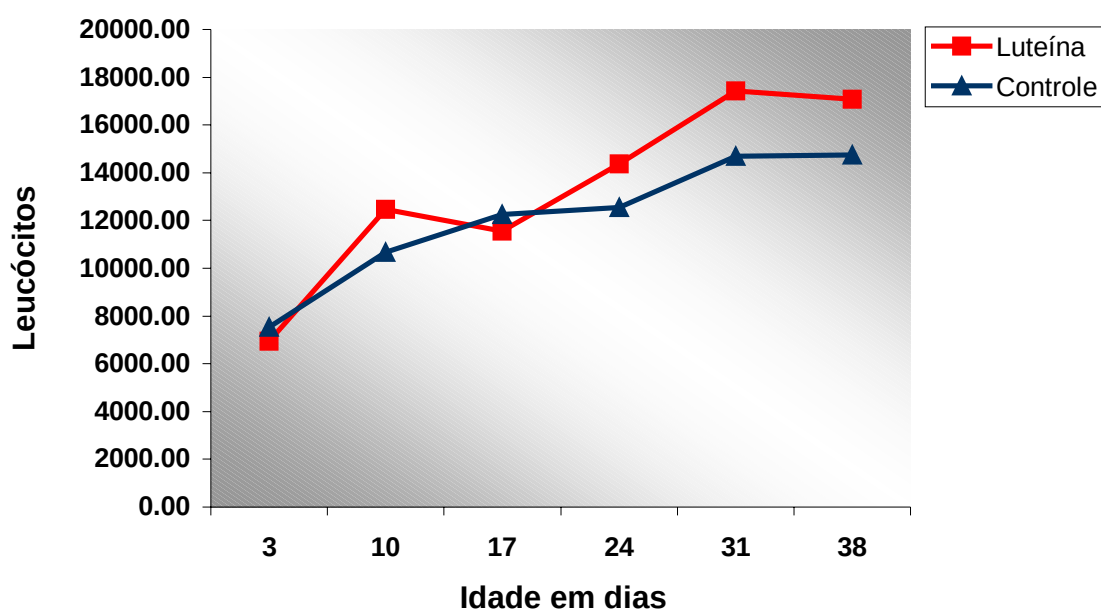


GRÁFICO 7 - Valores médios do número de leucócitos ($\times 10^3 / \mu\text{L}$), em gatos neonatos, com três, 10, 17, 24, 31 e 38 dias de idade, nos grupos controle (GC) e suplementado (GL) com o carotenóide luteína.

TABELA 17 - Médias e desvios-padrão do número absoluto de neutrófilos ($/\mu\text{L}$), em gatos neonatos, com três, 10, 17, 24, 31 e 38 dias de idade, nos grupos controle (GC) e suplementado (GL) com o carotenóide luteína.

	Momentos (dias)					
	3	10	17	24	31	38
GC	3025,40 $\pm$ 1299,64	4784,50 $\pm$ 3756,39	6001,40 $\pm$ 5809,05	6282,10 $\pm$ 4567,05	7644,60 $\pm$ 3971,02	7569,60 $\pm$ 4094,98
GL	3095,80 $\pm$ 1012,70	5979,60 $\pm$ 4887,10	6080,40 $\pm$ 5190,87	7521,90 $\pm$ 6384,08	10288,00 $\pm$ 8001,12	10432,30 $\pm$ 6685,03

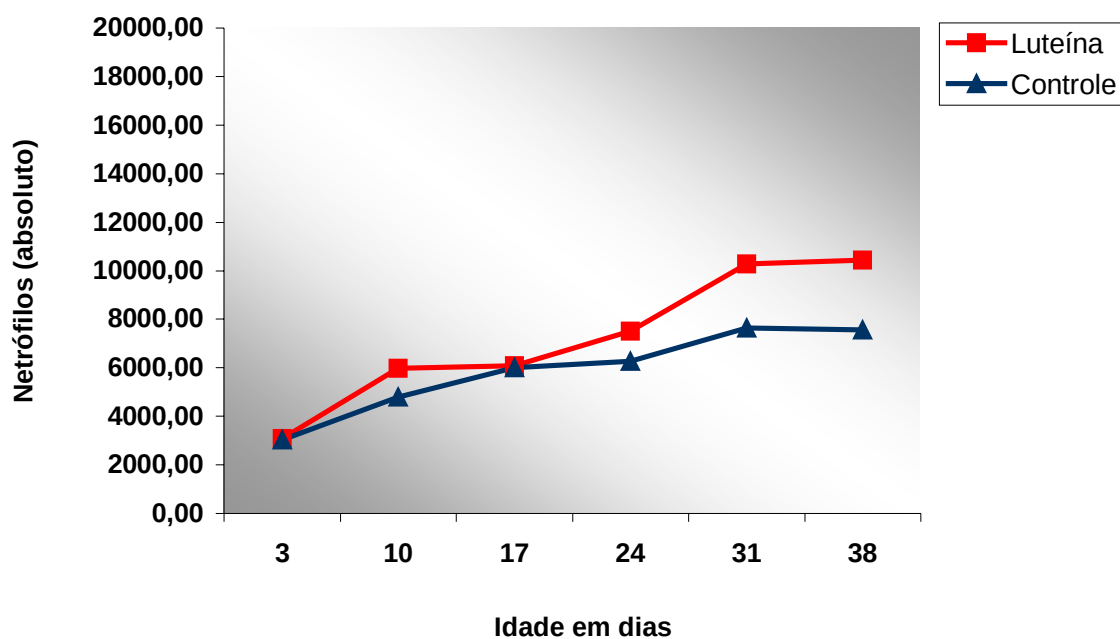


GRÁFICO 8 - Valores médios do número absoluto de neutrófilos ($/\mu\text{L}$), em gatos neonatos, com três, 10, 17, 24, 31 e 38 dias de idade, nos grupos controle (GC) e suplementado (GL) com o carotenóide luteína.

TABELA 18 - Médias e desvios-padrão do número absoluto de linfócitos ($/\mu\text{l}$), em gatos neonatos, com três, 10, 17, 24, 31 e 38 dias de idade, nos grupos controle (GC) e suplementado (GL) com o carotenóide luteína.

	Momentos (dias)					
	3	10	17	24	31	38
GC	3604,30 $\pm$ 1388,90	4738,10 $\pm$ 1575,20	4117,10 $\pm$ 1528,87	4670,10 $\pm$ 2385,67	3708,00 $\pm$ 1787,21	4062,10 $\pm$ 1958,91
GL	2891,00 $\pm$ 1227,24	5084,70 $\pm$ 1705,73	3488,30 $\pm$ 1426,26	4627,20 $\pm$ 2827,66	4122,40 $\pm$ 1912,22	4122,30 $\pm$ 1677,86

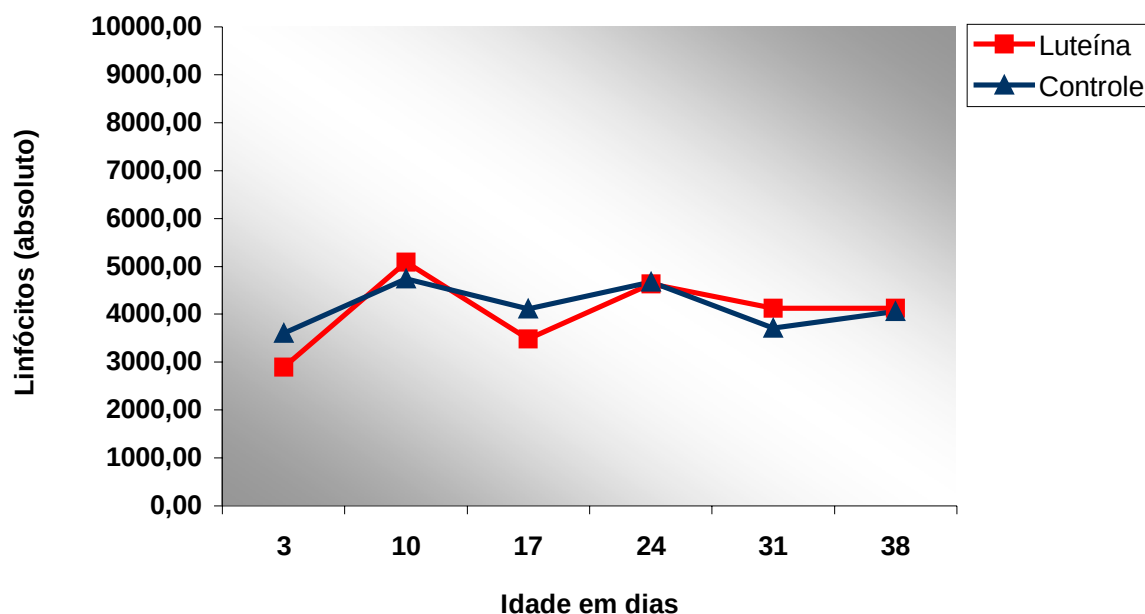


GRÁFICO 9 - Valores médios do número absoluto de linfócitos ($/\mu\text{L}$), em gatos neonatos, com três, 10, 17, 24, 31 e 38 dias de idade, nos grupos controle (GC) e suplementado (GL) com o carotenóide luteína.

TABELA 19 - Médias e desvios-padrão do número absoluto de eosinófilos (μL), em gatos neonatos, com três, 10, 17, 24, 31 e 38 dias de idade, nos grupos controle (GC) e suplementado (GL) com o carotenóide luteína.

Momentos (dias)						
	3	10	17	24	31	38
GC	809,50 $\pm$ 528,31	662,70 $\pm$ 386,80	1613,40 $\pm$ 1377,26	1042,00 $\pm$ 713,57	1063,10 $\pm$ 469,24	1510,90 $\pm$ 1153,16
GL	705,40 $\pm$ 392,47	525,90 $\pm$ 257,04	1436,20 $\pm$ 1049,59	729,83 $\pm$ 1042,00	479,31 $\pm$ 1063,10	706,09 $\pm$ 1510,90

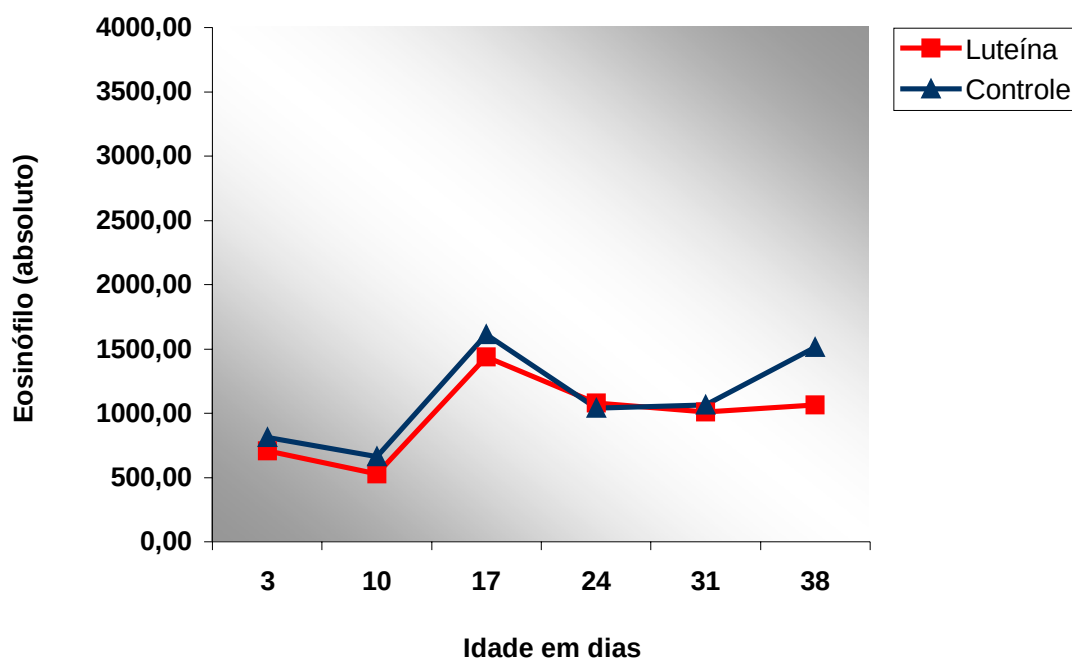


GRÁFICO 10 - Valores médios do número absoluto de eosinófilos (μL), em gatos neonatos, com três, 10, 17, 24, 31 e 38 dias de idade, nos grupos controle (GC) e suplementado (GL) com o carotenóide luteína.

TABELA 20 - Médias e desvios-padrão do número absoluto de basófilos ($/\mu\text{l}$), em gatos neonatos, com três, 10, 17, 24, 31 e 38 dias de idade, nos grupos controle (GC) e suplementado (GL) com o carotenóide luteína.

	Momentos (dias)					
	3	10	17	24	31	38
GC	140,50 $\pm$ 119,43	113,90 $\pm$ 150,17	53,20 $\pm$ 85,53	33,90 $\pm$ 48,57	182,30 $\pm$ 207,30	169,90 $\pm$ 119,47
GL	224,10 $\pm$ 344,56	316,60 $\pm$ 304,69	142,90 $\pm$ 127,27	98,50 $\pm$ 100,17	322,30 $\pm$ 323,89	138,00 $\pm$ 146,67

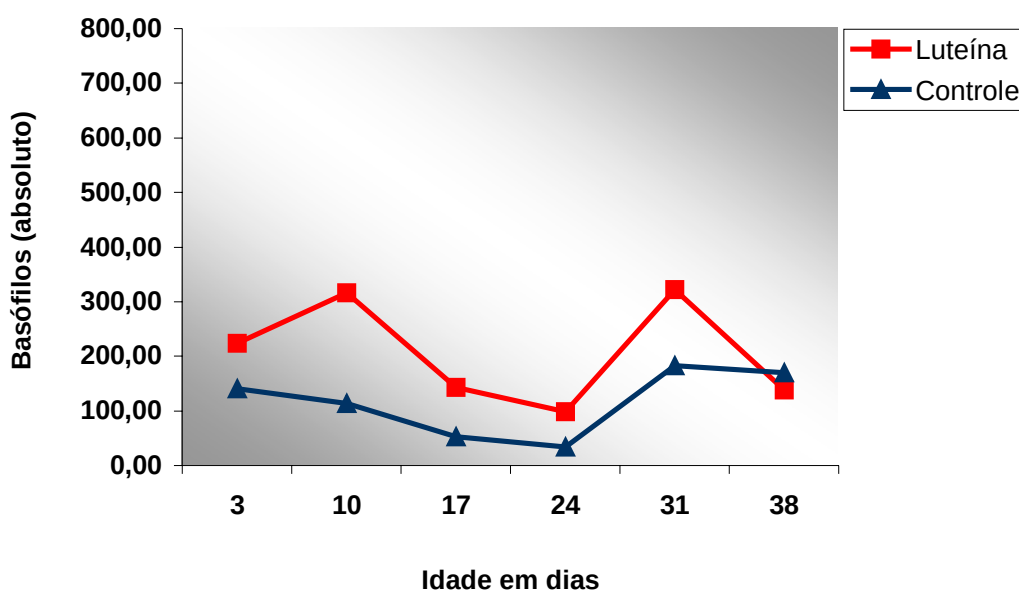


GRÁFICO 11 - Valores médios do número absoluto de basófilos ($/\mu\text{L}$), em gatos neonatos, com três, 10, 17, 24, 31 e 38 dias de idade, nos grupos controle (GC) e suplementado (GL) com o carotenóide luteína.

TABELA 21 - Médias e desvios-padrão do número absoluto de monócitos (μl), em gatos neonatos, com três, 10, 17, 24, 31 e 38 dias de idade, nos grupos controle (GC) e suplementado (GL) com o carotenóide luteína.

Momentos (dias)						
	3	10	17	24	31	38
GC	123,60 $\pm$ 119,67	178,20 $\pm$ 138,40	162,00 $\pm$ 75,87	297,20 $\pm$ 421,65	307,40 $\pm$ 291,31	640,30 $\pm$ 510,97
GL	208,30 $\pm$ 356,82	232,50 $\pm$ 328,43	705,20 $\pm$ 1578,6	301,00 $\pm$ 365,80	202,90 $\pm$ 160,21	507,60 $\pm$ 643,56

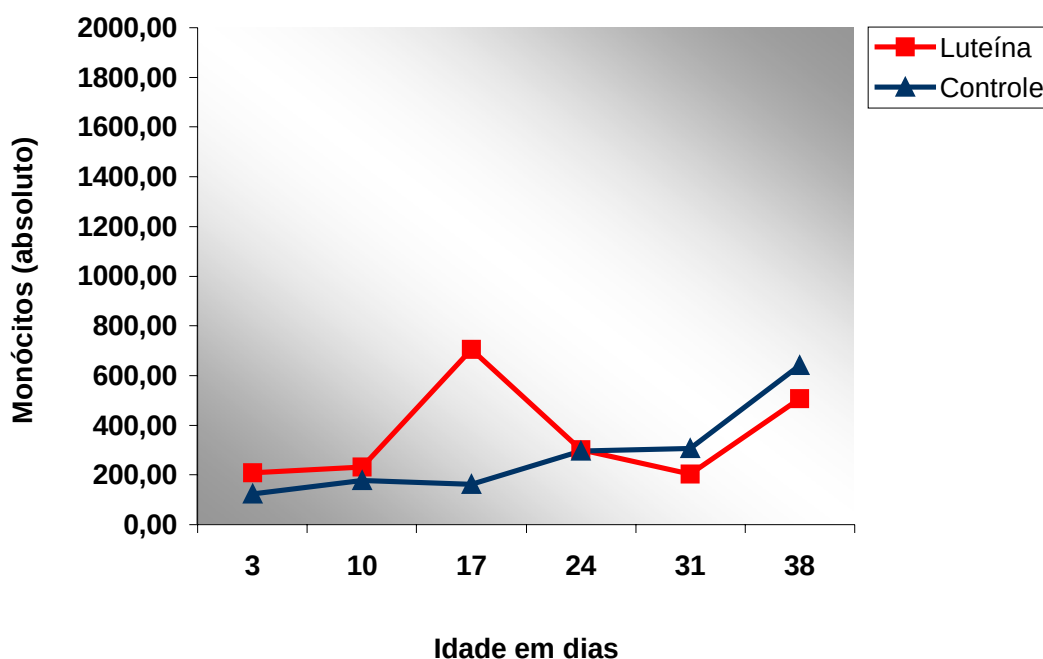


GRÁFICO 12 - Valores médios do número absoluto de monócitos (μL), em gatos neonatos, com três, 10, 17, 24, 31 e 38 dias de idade, nos grupos controle (GC) e suplementado (GL) com o carotenóide luteína.

4.3. GLICEMIA, ALT e GGT

Os resultados das análises de variância (ANOVA) para cada variável do exame bioquímico (alanina aminotransferase, gama glutamiltransferase e glicose) segundo o efeito dos tratamentos (controle e luteína), em cada momento avaliado (três, 10, 17, 24, 31 e 38) e também segundo a existência de interação entre os tratamentos versus momento, estão dispostos na tabela 22.

Na variável alanina aminotransferase (ALT), houve a existência de interação entre o tratamento e o momento. Nos momentos três e 17, houve uma diferença estatística significativa nos valores obtidos para o grupo luteína e o grupo controle, como disposto na tabela 23 das médias de quadrados mínimos. No momento três (previamente a administração de luteína os valores encontrados para o grupo luteína, já se encontravam superiores ao do grupo controle.

Os resultados obtidos para a variável gama glutamiltransferase (GGT) apresentaram diferenças estatísticas significantes em cada momento avaliado, como demonstrado na tabela 24 das médias de quadrados mínimos.

Os valores obtidos para a glicemia não apresentaram diferenças estatísticas significantes em cada tratamento ou momento avaliado, como demonstrado na tabela 27 das médias e desvio-padrão e no gráfico 13.

Os resultados em média e desvio-padrão das variáveis do exame bioquímico no grupo controle e luteína, em cada momento da observação, estão dispostos nas tabelas 25, 26, 27 e nos gráficos 13, 14 e 15, respectivamente.

TABELA 22 - Resultado das análises de variância para os exames bioquímicos.

Fontes de Variação	Graus de Liberdade	Quadrados Médios		
		ALT	GGT	Glicose
Tratamentos (T)	1	576,40 ^{**}	8,16 ^{n.s.}	91,87 ^{n.s.}
Momentos (M)	5	297,15 ^{**}	11,38 [*]	142,24 ^{n.s.}
Interação T x M	5	183,76 [*]	4,50 ^{n.s.}	141,71 ^{n.s.}
Resíduo	108	58,57	3,73	354,35 ^{n.s.}

n.s. = resultado não-significativo ($P>0,05$) pelo Teste F; ^{**} = resultado significativo no nível de 5% ($P<0,05$) pelo Teste F; ^{*} = resultado significativo no nível de 1% ($P<0,01$) pelo Teste F.

TABELA 23 - Médias de quadrados mínimos para ALT, segundo o desdobramento da Interação tratamentos (T) x momentos (M).

Tratamentos	Médias de Quadrados Mínimos					
	Momentos					
	3	10	17	24	31	38
Controle	22,90 ^b	19,40 ^a	17,80 ^b	23,30 ^a	25,40 ^a	29,10 ^a
Luteína	37,40 ^a	25,50 ^a	24,70 ^a	21,90 ^a	24,50 ^a	30,20 ^a

Médias seguidas por pelo menos uma mesma letra em uma mesma coluna não diferem entre si no nível de 5% de probabilidade ($P>0,05$) pelo Teste F.

TABELA 24 - Médias de quadrados mínimos para GGT, segundo os momentos avaliados.

Momentos	Médias de Quadrados Mínimos
	GGT
3	0,55 ^b
10	1,71 ^{ab}
17	2,19 ^{ab}
24	2,41 ^a
31	2,63 ^a
38	1,52 ^{ab}

Médias seguidas por pelo menos uma mesma letra em uma mesma coluna não diferem entre si no nível de 5% de probabilidade ($P>0,05$) pelo Teste de Tukey.

TABELA 25 - Médias e desvios-padrão da concentração sérica de alanina-aminotransferase (ALT) (UI/L), em gatos neonatos, com três, 10, 17, 24, 31 e 38 dias de idade, nos grupos controle (GC) e suplementado (GL) com o carotenóide luteína.

	Momentos (dias)					
	3	10	17	24	31	38
GC	22,90±6,62	19,40±3,63	17,80±2,86	23,30±7,78	25,40±4,79	29,10±9,62
GL	37,40±12,59	25,50±8,67	24,70±8,14	21,90±3,67	24,50±4,86	30,20±11,17

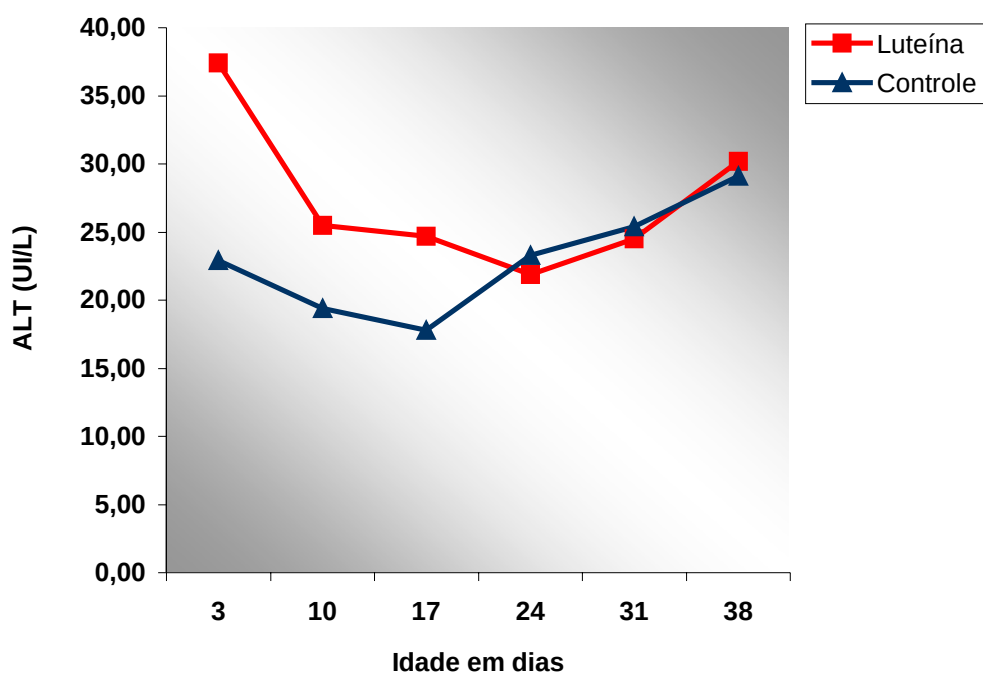


GRÁFICO 13 - Valores médios da concentração sérica de alanina aminotransferase (ALT), em gatos neonatos, com três, 10, 17, 24, 31 e 38 dias de idade, nos grupos controle (GC) e suplementado (GL) com o carotenóide luteína.

TABELA 26 - Médias e desvios-padrão da concentração sérica de gama glutamiltransferase (GGT) (UI/L), em gatos neonatos, com três, 10, 17, 24, 31 e 38 dias de idade, nos grupos controle (GC) e suplementado (GL) com o carotenóide luteína.

	Momentos (dias)					
	3	10	17	24	31	38
GC	0,63±0,55	1,56±1,53	2,49±1,44	1,55±1,68	1,82±1,56	1,41±1,28
GL	0,48±0,80	1,86±1,96	1,89±1,16	3,27±3,73	3,45±3,23	1,64±1,73

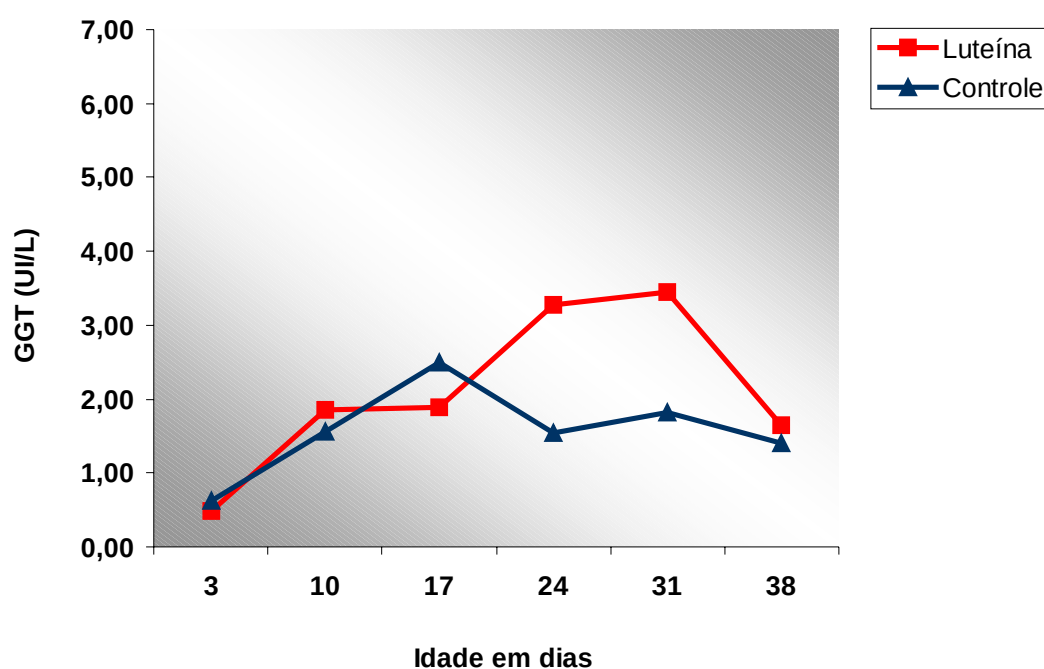


GRÁFICO 14 - Valores médios da concentração sérica de gama glutamiltransferase (GGT), em gatos neonatos, com três, 10, 17, 24, 31 e 38 dias de idade, nos grupos controle (GC) e suplementado (GL) com o carotenóide luteína.

TABELA 27 - Médias e desvios-padrão da concentração sérica de glicose (g/dL), em gatos neonatos, com três, 10, 17, 24, 31 e 38 dias de idade, nos grupos controle (GC) e suplementado (GL) com o carotenóide luteína.

Momentos (dias)						
	3	10	17	24	31	38
GC	137,80±26,28	128,80±13,77	126,60±13,53	127,30±11,13	124,90±13,38	124,90±13,38
GL	126,30±29,29	128,30±20,99	122,50±17,30	128,70±19,86	127,00±18,92	127,00±18,92

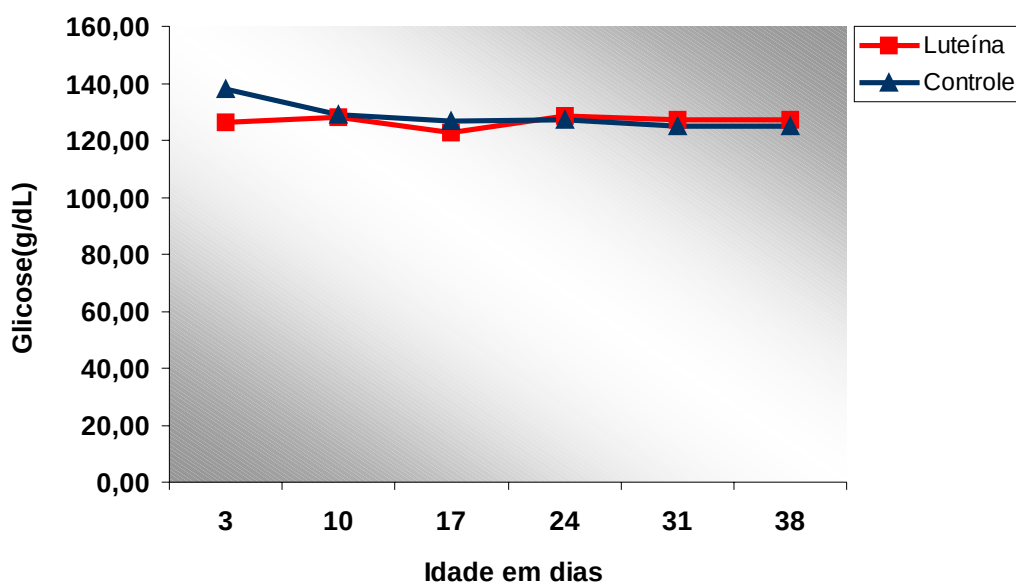


GRÁFICO 15 - Valores médios da glicemia , em gatos neonatos, com três, 10, 17, 24, 31 e 38 dias de idade, nos grupos controle (GC) e suplementado (GL) com o carotenóide luteína.

4.4. PROTEÍNAS TOTAIS E PROTEINOGRAMA

Os resultados das análises de variância (ANOVA) para cada variável do proteinograma (proteína sérica, albumina, alfa-globulina, beta-globulina e gama-globulina) nos valores relativos e absolutos, segundo o efeito dos tratamentos (controle e luteína), em cada momento avaliado (três, 10, 17, 24, 31 e 38) e também segundo a existência de interação entre os tratamentos versus momento, estão dispostos na tabela 28.

Nos resultados obtidos para albumina (relativo e absoluto) e alfa-globulina (relativo), houve a existência de interação entre o tratamento e o momento. No momento 17, ocorreu uma diminuição dos valores de albumina (relativo e absoluto) obtidos para o grupo controle, enquanto o grupo luteína permaneceu constante. Já no mesmo momento, os valores para alfa-globulina (relativo) demonstraram uma elevação para o grupo controle, enquanto o grupo luteína novamente permaneceu constante, como disposto na tabela 29 das médias de quadrados mínimos.

As seguintes variáveis: proteína total sérica, alfa-globulina (absoluto), beta-globulina (relativo e absoluto) e gama-globulina (relativo e absoluto) apresentaram diferenças estatísticas significantes em cada momento avaliado, como demonstrado na tabela 30 das médias de quadrados mínimos.

Os resultados em média e desvio-padrão das variáveis do exame bioquímico no grupo controle e luteína, em cada momento da observação, estão dispostos nas tabelas 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 e nos gráficos 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 respectivamente. A representação gráfica da corrida eletroforética pode ser visualizada nas figuras 13 e 14.

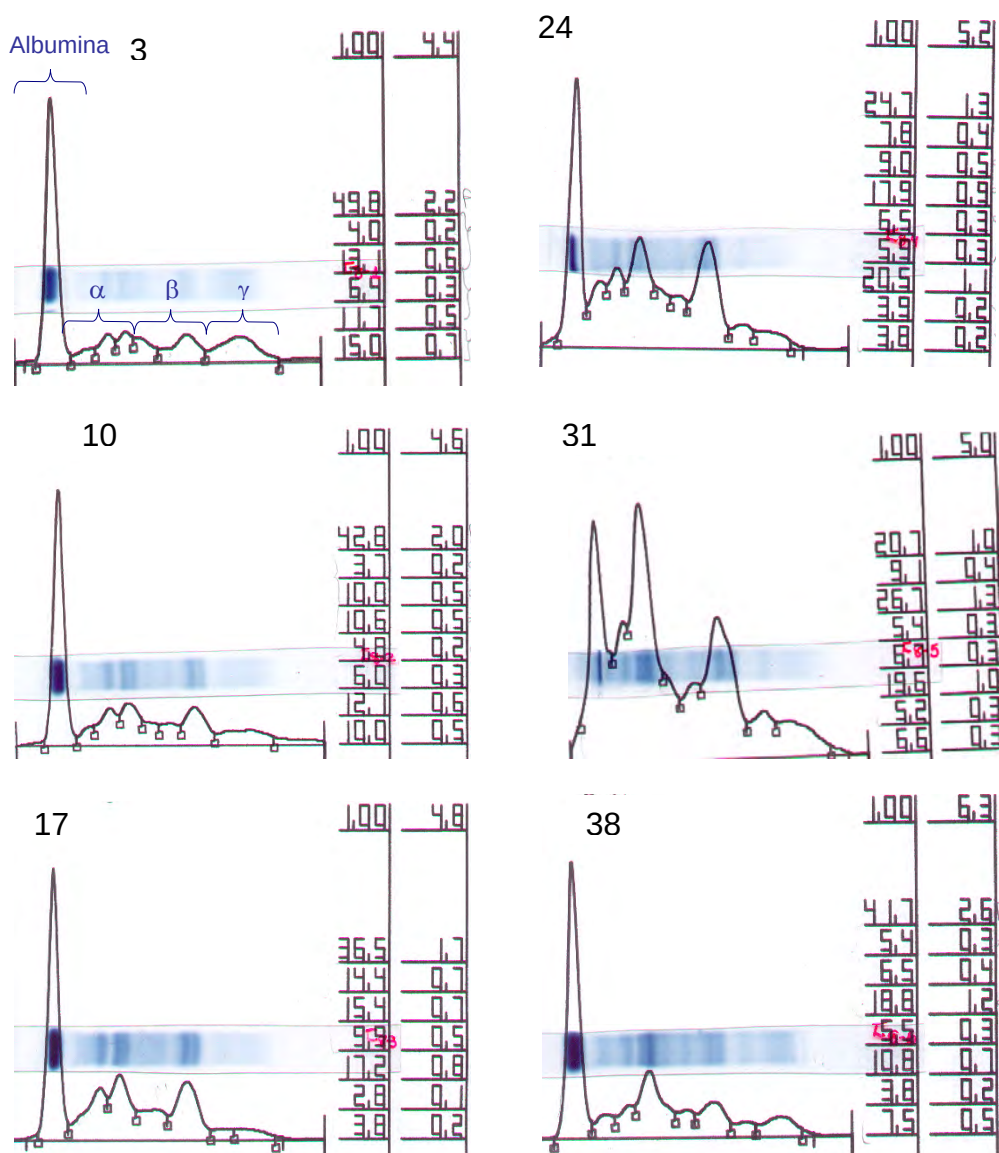


FIGURA 13 - Representação gráfica da corrida eletroforética de um neonato do grupo controle nos dias 3, 10, 17, 24, 31 e 38.

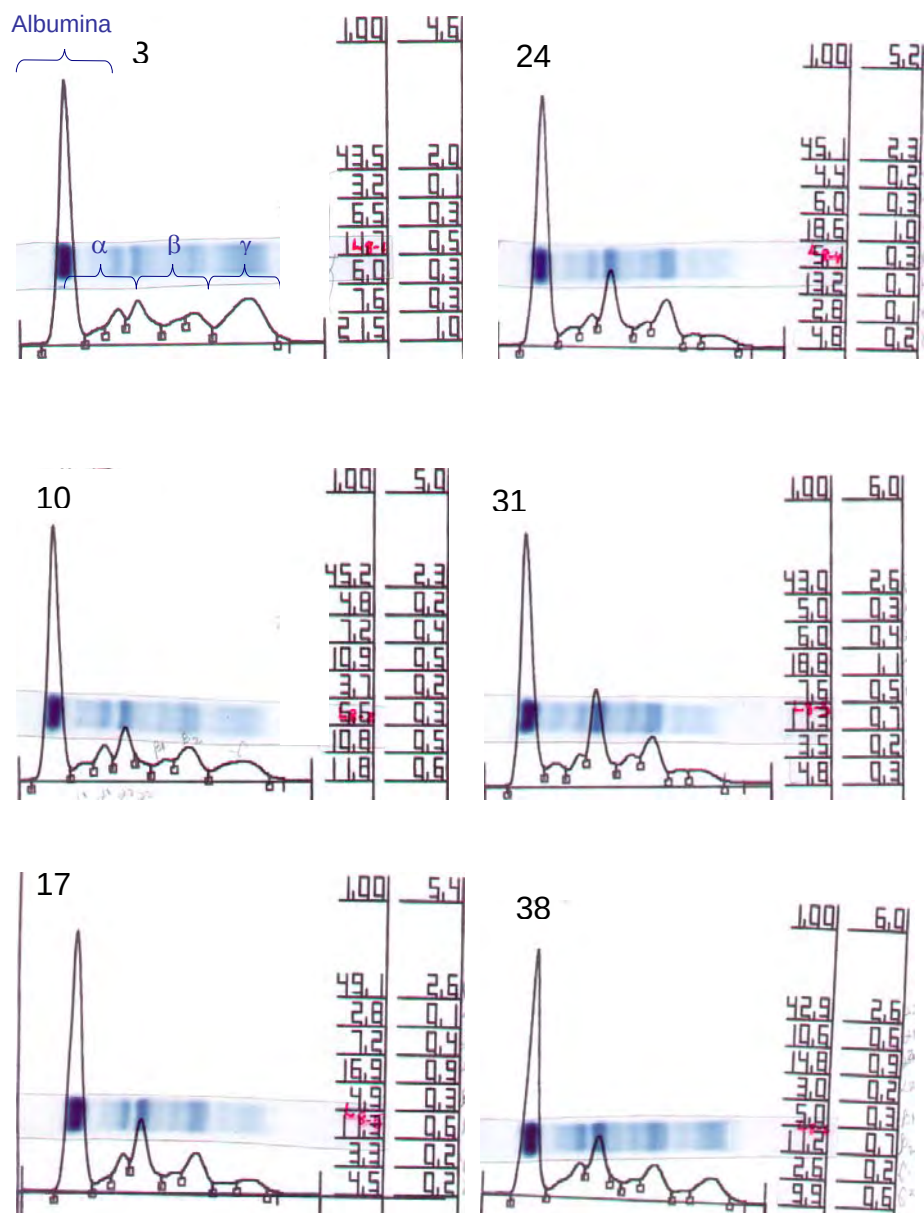


FIGURA 14 - Representação gráfica da corrida eletroforética de um neonato do grupo suplementado com luteína nos dias 3, 10, 17, 24, 31 e 38.

TABELA 28 - Resultado das análises de variâncias para o proteinograma

Fontes de Variação	Graus de Liberdade	Ptn Ser	Quadrados Médios							
			Albumina		Alfa		Beta		Gama	
			Relativo	Absoluto	Relativo	Absoluto	Relativo	Absoluto	Relativo	Absoluto
Tratamentos (T)	1	0,29 ^{n.s.}	429,40 ^{**}	0,64 [*]	208,82 [*]	0,81 ^{n.s.}	21,33 ^{n.s.}	0,11 ^{n.s.}	3,13 ^{n.s.}	0,004 ^{n.s.}
Momentos (M)	5	4,65 ^{**}	243,39 ^{**}	2,20 ^{**}	294,43 [*]	1,42 ^{**}	29,04 ^{**}	0,17 ^{**}	218,97 ^{**}	0,527 ^{**}
Interação T x M	5	0,09 ^{n.s.}	202,28 ^{**}	0,52 ^{**}	121,28 [*]	0,46 ^{n.s.}	13,17 ^{n.s.}	0,05 ^{n.s.}	12,10 ^{n.s.}	0,032 ^{n.s.}
Resíduo	108	0,89	35,37	0,09	25,85	0,25	8,89	0,06	10,22	0,042

^{n.s.} = resultado não-significativo (P>0,05) pelo Teste F; ^{**} = resultado significativo no nível de 5% (P<0,05) pelo Teste F; ^{*} = resultado significativo no nível de 1% (P<0,01) pelo Teste F.

TABELA 29 - Médias de quadrados mínimos para a concentração de albumina e alfa-globulina, segundo o desdobramento da interação tratamentos (T) x momentos (M).

Tratamentos	Médias de Quadrados Mínimos							
	Momentos							
	3	10	17	24	31	38		
Albumina Relativa	Controle	48,03 ^a	41,14 ^a	32,69 ^b	49,87 ^a	48,59 ^a	43,51 ^a	
	Luteína	49,06 ^a	46,23 ^a	48,57 ^a	47,70 ^a	49,71 ^a	45,26 ^a	
Albumina Absoluta	Controle	2,30 ^a	2,05 ^a	1,68 ^b	2,91 ^a	2,83 ^a	2,59 ^a	
	Luteína	2,42 ^a	2,25 ^a	2,42 ^a	2,69 ^a	2,84 ^a	2,62 ^a	
Alfa globulina	Controle	20,76 ^a	30,23 ^a	29,65 ^a	29,01 ^a	29,98 ^a	28,44 ^a	
Relativa	Luteína	22,62 ^a	28,64 ^a	27,63 ^b	28,07 ^a	26,57 ^a	28,71 ^a	

Médias seguidas por pelo menos uma mesma letra em uma mesma coluna não diferem entre si no nível de 5% de probabilidade (P>0,05) pelo Teste F.

TABELA 30 - Médias de quadrados mínimos para concentração de proteína total sérica, alfa-globulina, beta-globulina e gama-globulina, segundo os momentos avaliados.

Momentos	Médias de Quadrados Mínimos						
	Ptn Ser	Alfa		Beta		Gama	
		Relativo	Absoluto	Relativo	Absoluto	Relativo	Absoluto
3	4,87 ^c	----	1,03 ^b	15,56 ^b	0,74 ^b	14,20 ^a	0,69 ^a
10	4,99 ^{bc}	----	1,47 ^{ab}	17,22 ^{ab}	0,84 ^{ab}	9,66 ^{bc}	0,48 ^b
17	5,29 ^{abc}	----	1,74 ^a	18,61 ^a	0,97 ^a	7,11 ^{cd}	0,36 ^b
24	5,80 ^{ab}	----	1,67 ^a	17,03 ^{ab}	0,98 ^a	5,62 ^d	0,32 ^b
31	5,89 ^a	----	1,63 ^a	16,11 ^{ab}	0,94 ^{ab}	6,47 ^d	0,38 ^b
38	5,89 ^a	----	1,71 ^a	15,44 ^b	0,93 ^{ab}	11,57 ^{ab}	0,68 ^a

Médias seguidas por pelo menos uma mesma letra em uma mesma coluna não diferem entre si no nível de 5% de probabilidade ($P>0,05$) pelo Teste de Tukey.

TABELA 31 - Médias e desvios-padrão da concentração de proteína total sérica (g/dL), em gatos neonatos, com três, 10, 17, 24, 31 e 38 dias de idade, nos grupos controle (GC) e suplementado (GL) com o carotenóide luteína.

	Momentos (dias)					
	3	10	17	24	31	38
GC	4,80±0,46	5,09±0,92	5,32±0,96	5,89±1,12	5,95±1,13	6,09±,093
GL	4,95±0,67	4,90±0,78	5,27±1,07	5,72±1,12	5,83±1,01	5,88±0,98

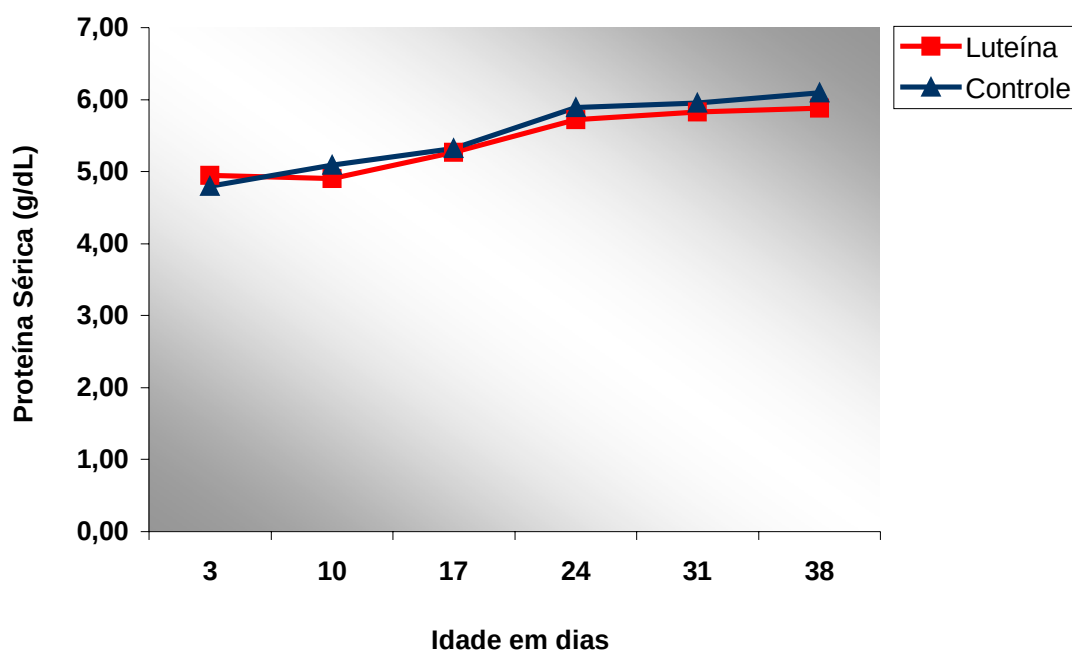
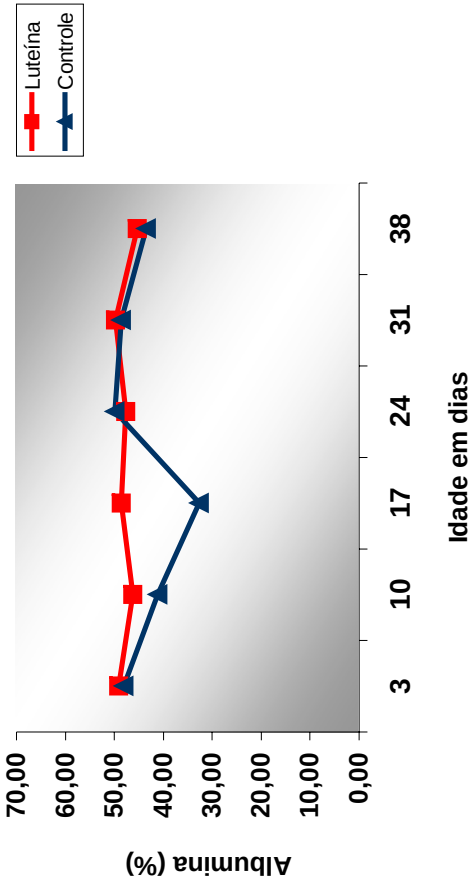


GRÁFICO 16 - Valores médios da concentração de proteína total sérica, em gatos neonatos, com três, 10, 17, 24, 31 e 38 dias de idade, nos grupos controle (GC) e suplementado (GL) com o carotenóide luteína.

TABELAS 32 e 33 - Médias e desvios-padrão da concentração albumina em (% e g/dL), em gatos neonatos, com três, 10, 17, 24, 31 e 38 dias de idade, nos grupos controle (GC) e suplementado (GL) com o carotenóide luteína.

Momentos (dias)						
%	3	10	17	24	31	38
GC	48,03±3,16	41,14±5,98	32,69±9,60	49,87±4,64	48,59±5,36	43,51±6,99
GL	49,06±3,98	46,23±3,54	48,57±4,82	47,70±6,21	49,71±6,74	45,26±7,03



Momentos (dias)						
g/dL	3	10	17	24	31	38
GC	2,03±0,31	2,05±0,25	1,68±0,44	2,91±0,39	2,83±0,34	2,59±0,21
GL	2,42±0,42	2,25±0,30	2,42±0,09	2,69±0,26	2,84±0,27	2,62±0,32

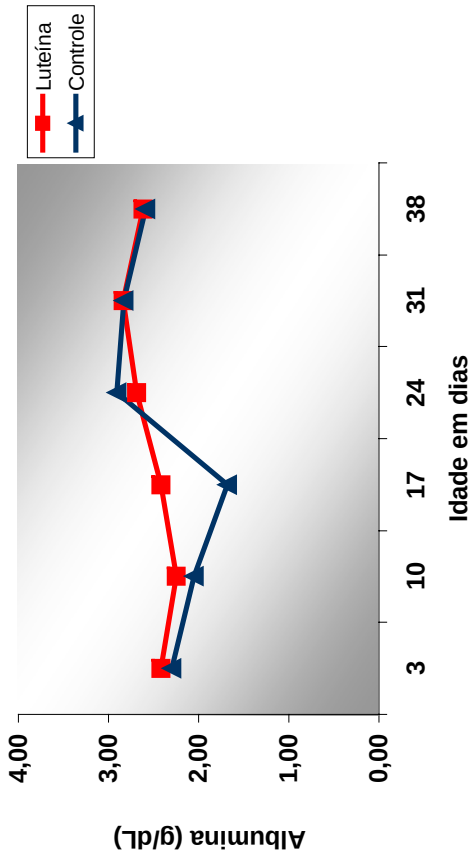


GRÁFICO 17 e 18- Valores médios da concentração de albumina (% e g/dL), em gatos neonatos, com três, 10, 17, 24, 31 e 38 dias de idade, nos grupos controle (GC) e suplementado (GL) com o carotenóide luteína.

TABELAS 34 e 35 - Médias e desvios-padrão da concentração alfa-globulina em (% e g/dL), em gatos neonatos, com três, 10, 17, 24, 31 e 38 dias de idade, nos grupos controle (GC) e suplementado (GL) com o carotenoíde luteína.

		Momentos (dias)					
		3	10	17	24	31	38
GC		0,95±0,21	1,55±0,52	2,11±0,87	1,72±0,56	1,71±,44	1,73±0,63
GL		1,12±0,16	1,40±0,29	1,37±0,37	1,63±0,63	1,56±0,47	1,70±0,45

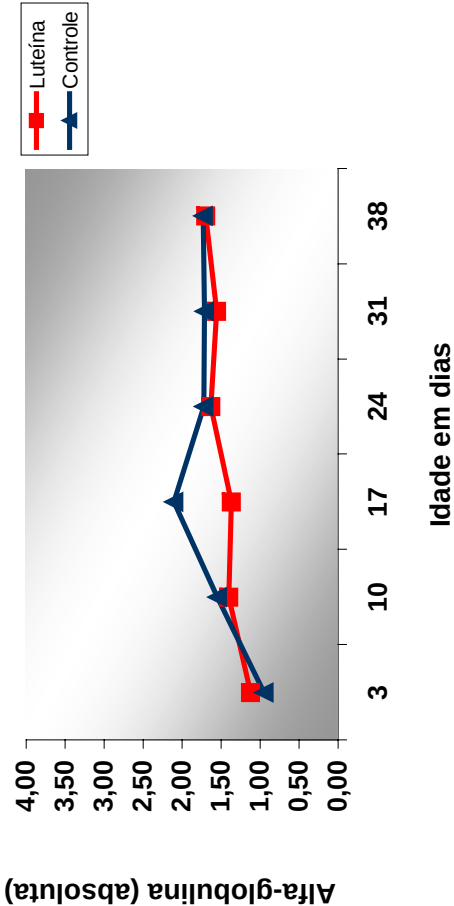
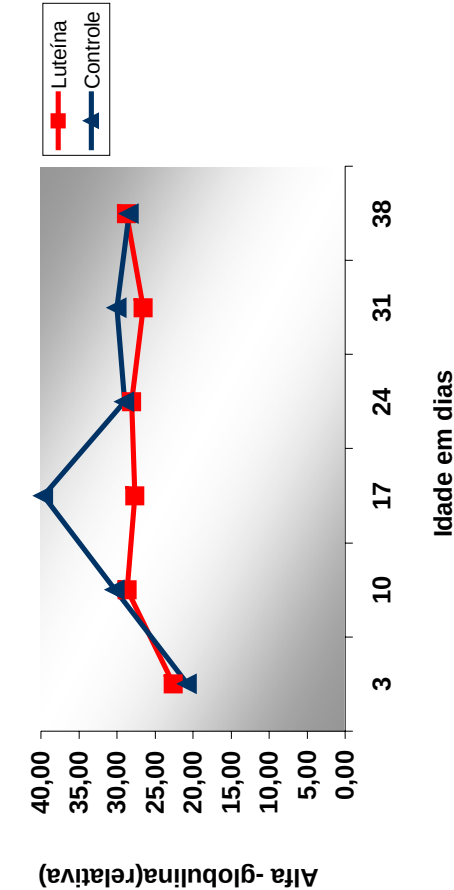


GRÁFICO 19 e 20- Valores médios da concentração de alfa-globulina (% e g/dL), em gatos neonatos, com três, 10, 17, 24, 31 e 38 dias de idade, nos grupos controle (GC) e suplementado (GL) com o carotenóide luteína.

TABELAS 36 e 37 - Médias e desvios-padrão da concentração beta-globulina em (% e g/dL), em gatos neonatos, com três, 10, 17, 24, 31 e 38 dias de idade, nos grupos controle (GC) e suplementado (GL) com o carotênóide luteína.

		Momentos (dias)					
		3	10	17	24	31	38
GC	16,25±3,34	18,15±2,06	20,17±1,64	16,43±1,96	15,74±2,55	15,77±7,96	
GL	14,87±1,40	16,29±1,36	17,06±1,94	17,63±1,44	16,48±1,66	15,12±1,57	

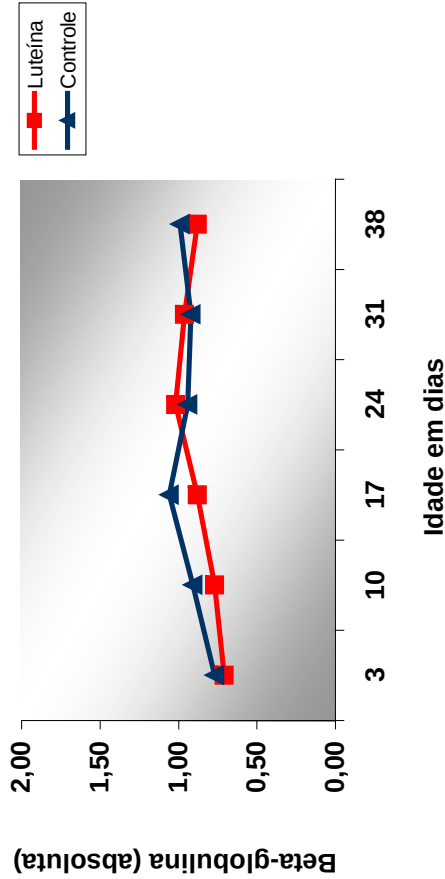
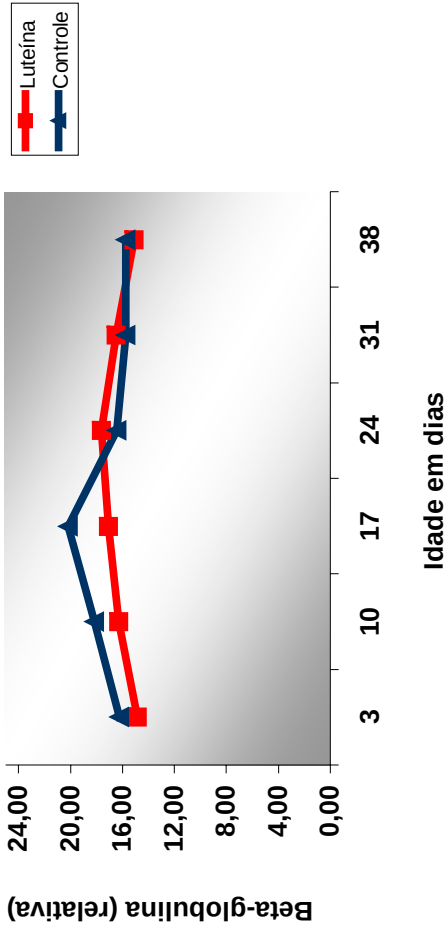


GRÁFICO 21 e 22 - Valores médios da concentração de beta-globulina (% e g/dL), em gatos neonatos, com três, 10, 17, 24, 31 e 38 dias de idade, nos grupos controle (GC) e suplementado (GL) com o carotênóide luteína.

TABELAS 38 e 39 - Médias e desvios-padrão da concentração gama-globulina em (% e g/dL), em gatos neonatos, com três, 10, 17, 24, 31 e 38 dias de idade, nos grupos controle (GC) e suplementado (GL) com o carotênóide luteína.

Momentos (dias)						
3	10	17	24	31	38	
GC						
14,96±4,15	1,48±1,92	7,49±3,54	4,85±2,42	5,70±2,14	12,24±4,34	
GL						
13,45±5,61	8,84±2,52	6,74±1,76	6,60±0,98	7,24±1,88	10,91±3,82	

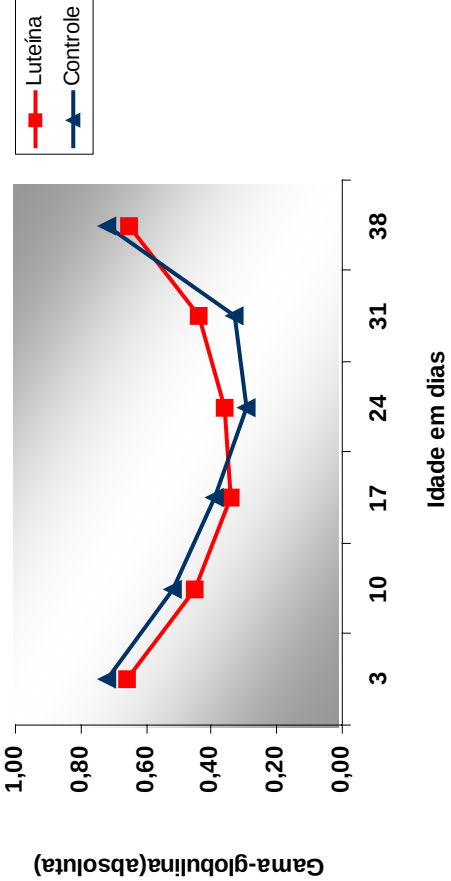
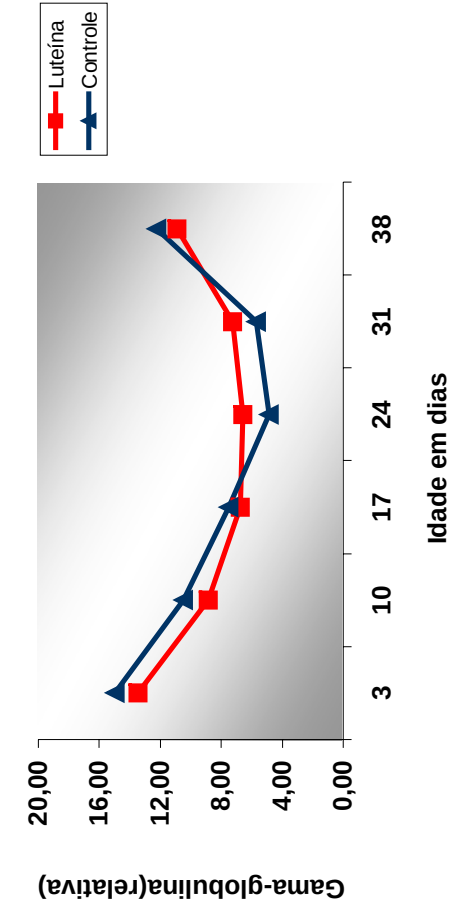


GRÁFICO 23 e 24 - Valores médios da concentração de gama-globulina (% e g/dL), em gatos neonatos, com três, 10, 17, 24, 31 e 38 dias de idade, nos grupos controle (GC) e suplementado (GL) com o carotênóide luteína.

4.5. PESO

A variável peso apresentou diferença estatística significativa em cada momento avaliado durante o experimento.

Os resultados em média e desvio-padrão da variável peso, no grupo controle e luteína, em cada momento da observação, estão dispostos na tabela 40 e na figura 25, respectivamente.

TABELA 40 - Média e desvio-padrão do peso corpóreo (gramas) em gatos neonatos, com três, 10, 17, 24, 31 e 38 dias de idade, nos grupos controle (GC) e suplementado (GL) com o carotenóide Luteína.

	Momentos (dias)					
	3	10	17	24	31	38
GC	113,00±22,13	198,00±44,17	271,00±73,24	334,00±76,18	393,00±78,74	444,00±70,11
GL	117,00±28,30	192,00±45,16	274,00±61,13	351,00±85,69	393,00±80,69	460,00±82,19

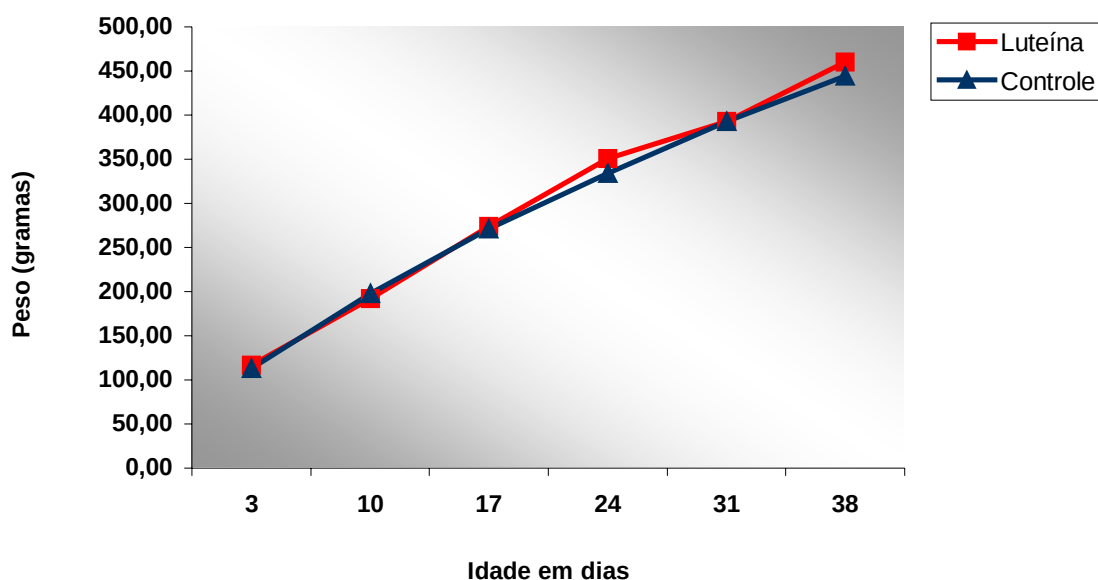


GRÁFICO 25 - Valores médios do peso corpóreo, em gatos neonatos, com três, 10, 17, 24, 31 e 38 dias de idade, nos grupos controle (GC) e suplementado (GL) com o carotenóide luteína.

5. Discussão



5.1 INFLUÊNCIA DA FAIXA ETÁRIA

5.1.1. ERITROGRAMA

A cinética do desenvolvimento hematológico nos gatos sem raça definida no período neonatal observada nesta pesquisa, corroborou com os resultados de grande parte dos autores consultados (TIEDEMANN & OUYEN, 1978; MURTAUGH, 1994; CLINKENBEARD & MEINKOTH, 2000; HOSKINS, 2001; MINOVICH, 2003). Os valores descritos, abaixo dos limites considerados normais para adultos, no que se refere à contagem de eritrócitos e a presença de grandes eritrócitos de origem fetal conferindo uma macrocitose, foram observados precocemente a partir do terceiro dia de vida (Tabela 41).

O declínio da série vermelha no período neonatal, denominado de “anemia fisiológica”, ocorreu por volta da segunda semana de vida e persistiu até a quarta semana quando a partir de então houve uma elevação sutil. A presença de uma anemia nutricional por deficiência de ferro, em decorrência dos baixos níveis presentes no leite materno em relação à alta demanda de eritrócitos neoformados citada por Weiser & Kociba (1983), também não foi detectada.

Os valores hematológicos para neonatos felinos sem raça definida, encontravam-se parcialmente abaixo dos valores descritos para mesma faixa etária desde os três dias de idade, período de início da pes-

quisa. Com o progredir, os valores diminuíram ainda mais, e os menores valores ocorreram por volta do 24º dia (terceira semana). Pode-se atribuir esse fato à anemia fisiológica descrita por Hoskins (2001) e também às colheitas de sangue semanais para a realização dos exames laboratoriais.

A partir do nascimento, o quadro hematológico dos neonatos felinos apresentou diferenças atribuída a influência da faixa etária, em cada momento avaliado (três, 10, 17, 24, 31 e 38 dias). Tiedmann & Ooyen (1978), Meyers-Wallen (1984), Jain (1993), Murtaugh (1994) e Hoskins (2001) também descreveram o efeito da idade nos diversos componentes celulares do sangue (Tabela 41).

A contagem total de eritrócitos durante todo o período neonatal analisado esteve sempre abaixo dos valores de referência para os gatos adultos assim como o observado por Clinkenbeard & Meinkoth (2000), confirmando que o desenvolvimento hematológico no gato persiste por longos períodos, excedendo a fase neonatal de quatro semanas (JAIN, 1993).

Na primeira semana de vida, aos três dias de idade, os valores médios de eritrócitos foram inferiores aos de referência para adultos e para neonatos. Os valores de hemoglobina e do volume globular encontravam-se discretamente elevados, embora dentro dos limites definidos por Meyers-Wallen (1984). Estes resultados obtidos confirmam o franco desenvolvimento da medula óssea que assume o controle da he-

matopoiese a partir dos 45 dias de gestação, ainda no período fetal concordando com os resultados obtidos por Tiedemann & Ooyen (1978).

Além do número de eritrócitos inferior ao dos adultos, aos três dias de idade, os valores elevados do volume corpuscular médio devido à ampla população de grandes células fetais, conferiram uma macrocitose neonatal superior à descrita por Tiedmann & Ooyen (1978), Murtaugh (1994), Clinkebeard & Meinkoth (2000) e Hoskins (2001) que avaliaram a média quinzenal. A macrocitose equiparou-se apenas aos valores descritos por Jain (1993) para filhotes, avaliados nas primeiras 12 a 24 horas após o nascimento.

A concentração de hemoglobina corpuscular média, contudo, manteve-se dentro dos valores de adultos e também de neonatos, confirmando o fato proposto por Mauak & Lessard (1974) de que a síntese de hemoglobina não acompanha a crescente demanda de eritrócitos neoformados.

Nas três semanas subseqüentes, com dez, 17 e 24 dias de idade, os neonatos demonstraram uma queda acentuada nos parâmetros hematológicos, como a contagem de eritrócitos, a hemoglobina e o volume globular. Os valores encontrados foram bem inferiores aos citados por Meyers-Wallen (1984) e Hoskins (2001), tanto para gatos adultos quanto para neonatos, podendo-se considerar, portanto, a presença de um quadro anêmico nesta fase da vida do animal.

Os valores hematológicos obtidos foram menores do que os referidos na literatura a partir da segunda semana, embora os valores iniciais desta pesquisa já se encontrassem menores. A escolha de uma colheita semanal durante seis semanas para a realização dos exames pode ter contribuído para este fato, uma vez que em grande parte da literatura descrita, os valores de referência correspondiam a amostras colhidas em intervalos quinzenais (COLLES, 1984; MEYERS-WALLEN, 1984; MURTAUGH, 1994; HOSKINS, 2001).

Outro aspecto que pode ter influenciado na obtenção de baixos valores hematológicos foi o número de punções executadas. Embora realizadas semanalmente e com retirada de pequenos volumes de sangue, de acordo com o peso do animal, provavelmente fizeram com que esse decréscimo acentua-se ainda mais o quadro conhecido como anemia fisiológica do recém-nascido, por volta da segunda a quarta semanas de idade, embora não tenham sido detectados achados citológicos no esfregaço sanguíneo que justificassem o quadro anêmico. O que poderia se supor também neste caso é que a retirada de sangue semanalmente serviria como um estímulo medular, como nos adultos.

O VCM com dez e 17 dias continuou discretamente mais elevado do que a média considerada pelos autores (TIEDEMANN & OOHYEN, 1978; MURTAUGH, 1994; CLINKENBEARD & MEINKOTH, 2000; HOSKINS, 2001) no período desde o nascimento até duas semanas de idade, indicando ainda um certo predomínio dos grandes eritrócitos fetais.

Já aos 24 dias de idade, se encontrava dentro dos valores de referência para neonatos.

O CHCM, aos dez, 17 e 24 dias encontrava-se dentro dos valores considerados normais para adultos e também para neonatos, embora em discordância com Meyers-Wallen (1984) que propõe uma elevação sutil no VG, na contagem total de eritrócitos e de hemoglobina a partir da terceira semana, e uma diminuição na concentração de hemoglobina corpuscular média, pois a síntese de hemoglobina não acompanha a crescente demanda de células vermelhas.

Do 31º dia de vida em diante, houve uma aproximação dos valores de adultos do eritrograma, embora os valores encontrados ainda permanecessem abaixo dos descritos. Em concordância com Windle et al. (1940), acredita-se que a transição entre a diminuição dos eritrócitos fetais e o aumento dos eritrócitos neonatais iniciou-se por volta da quarta semana de vida. A partir deste momento, ocorreu uma discreta elevação dos eritrócitos e do volume globular; em contrapartida, os valores para hemoglobina permaneceram praticamente inalterados e do CHCM com uma discreta tendência à diminuição, confirmando o que foi descrito por Meyers-Wallen (1984), que cita que a síntese de hemoglobina não foi rápida o suficiente para acompanhar a demanda de novos eritrócitos.

Aos 38 dias de idade, os valores dos eritrograma ainda estavam abaixo das médias descritas por grande parte dos autores, em-

bora já se observasse uma elevação em relação à semana anterior. Os valores de hemoglobina e do VG estavam baixos, o VCM discretamente elevado e o CHCM discretamente elevado. Neste momento, embora o VG estivesse dentro da faixa de variação de 12 a 30%, não houve a presença de micrócitos (VCM <24fL) nem mesmo de fragmentação eritrocitária ao esfregaço sanguíneo, como descrito por Weiser & Kociba (1983), em animais com baixos estoques de ferro.

Embora os animais estivessem sob o quadro de anemia fisiológica, com níveis relativamente baixos de eritrócitos, do VG e da hemoglobina, não apresentaram sinais clínicos como anorexia, apatia, dispnéia, fraqueza e perda de peso, e o ganho de peso diário manteve-se dentro dos padrões considerados normais para neonatos (10% de ganho de peso ao nascimento diariamente), como apontado por Moore (2000). Como proposto por Murtaugh (1994), acredita-se que esta ausência de sinais clínicos compatíveis com um quadro anêmico, deva-se ao fato de que o gato é a única espécie animal que exibe um espectro diferente em relação à afinidade de hemoglobina ao oxigênio. Em concordância com Mauak & Lessard (1974) e Meyers-Wallen (1984), embora anêmicos e aparentemente com uma diminuição na capacidade de carrear oxigênio para os tecidos, os neonatos felinos possivelmente alteram a curva de dissociação de oxigênio, permitindo que este seja liberado mais facilmente.

As discrepâncias encontradas entre os autores também podem ser atribuídas provavelmente às variações regionais, ao local escolhido para venopunção, à quantidade de anticoagulante, ao tempo decorrido da punção até a análise e também da manipulação para a contenção dos neonatos, como descrito por Johnson & Perman (1968).

5.1.2. LEUCOGRAMA

Aos três dias, o número de leucócitos totais estava dentro dos valores de referência para adultos segundo Clinkenbeard & Meinkoth (2000) e em concordância com Tiedemann & Ooyen (1978), que afirmam que, em grande parte dos neonatos, mais de 60% dos valores de adultos estão presentes ao nascimento, indicando desenvolvimento e maturação, adequados da medula óssea. Contudo, os valores estiveram abaixo da média considerada normal por outros autores como Meyers-Wallen (1984), Murtaugh (1994), Hoskins (2001) e Minovich (2003), para neonatos.

Os valores totais dos leucócitos aumentaram progressivamente com a idade e, com 38 dias, apresentavam o dobro do encontrado ao nascimento embora dentro dos valores de referência, em discordância com Meyers-Wallen (1984) que descreve valores muito acima dos adultos por volta da segunda à oitava semana de idade.

Na contagem diferencial de leucócitos, o valor absoluto de neutrófilos estava dentro dos padrões para adultos normais e discretamente inferior aos dos neonatos descritos, até por volta do 24°. A população circulante de neutrófilos foi progressivamente se elevando com o passar do tempo, embora em nenhum momento fosse notada a presença de

uma neutrofilia, como a descrita por Meyers-Wallen (1984), em associação à excitação ou ao estresse da colheita.

Em relação à contagem de linfócitos, houve uma variação sutil durante todos os períodos avaliados, com a persistência de valores inferiores aos descritos que flutuaram ao redor de 3.240 a 4.910 células/ μ L (Tabela 18, Gráfico 9) . Uma alta contagem de linfócitos, maior do que nos adultos ou idosos como referido por Clinkenbeard & Meinkoth (2000), não foi observada em nenhum momento. Não ocorreu nem mesmo uma linfocitose fisiológica secundária à excitação ou medo, o que se esperaria durante as colheitas como mencionado por Jain (1993).

Os valores para linfócitos encontrados neste trabalho aos três e 24 dias de idade (3.240 e 4.640 células/ μ L, respectivamente) estão mais próximos dos descritos por Sellon et al. (1996) e por Bortinick et al. (1999) (2.683 e 3.953 células/ μ L, respectivamente).

A linfocitose provavelmente ocorre com o avançar da idade, por volta da oitava semana como também já descrito por Clinkenbeard & Meinkoth (2000) e Jain (1993).

Os valores encontrados nesta pesquisa para monócitos apresentaram-se semelhantes aos dos gatos adultos, contudo superiores aos dos neonatos descritos por grande parte dos autores que analisaram o período neonatal (TIEDEMANN & OOYEN, 1978; MURTAUGH, 1994; HOSKINS, 2001; MINOVICH, 2003). Como os valores ainda estavam abaixo da contagem de 850 células/ μ L, limite de referência para gatos a-

dultos (CLINKENBEARD & MEINKOTH, 2000), não se pôde atribuir a denominação de monocitose para o quadro observado.

Como apontado por Cowell & Decker (2000), a monocitose é descrita em condições agudas ou crônicas associadas à inflamação, destruição tecidual e neutrofilia. Algumas etiologias incluem injúrias traumáticas, supuração, necrose tecidual, inflamação piogranulomatosa, hemólise, hemorragia, malignidade e desordens imunomediadas. Dentro de todas as possibilidades citadas, a mais provável é a de um processo inflamatório no local da punção sanguínea, contudo não acompanhado de uma neutrofilia ou provavelmente, os valores de monócitos para neonatos sejam os mesmos de referência para adultos.

O número absoluto de eosinófilos encontrou-se durante toda a pesquisa próximo ao dos adultos e também dos neonatos, quando comparado aos valores referidos por Minovich (2003). Uma variação de acordo com a área geográfica e possivelmente com a carga parasitária poderia explicar essa discordância. Uma eosinofilia discreta foi observada apenas no 17º dia, mas não foi realizado o exame coproparasitológico para a verificação de possível verminose, contudo uma migração tecidual de larvas, justificando uma eosinofilia, neste período seria improvável.

A maior discrepância encontrada na contagem diferencial de leucócitos foi em relação aos basófilos. Em grande parte da literatura consultada (TIEDEMANN & OUYEN, 1978; MURTAUGH, 1994; CLINKENBEARD & MEINKOTH, 2000; HOSKINS, 2001; MINOVICH, 2003), os

valores descritos variaram de raros para gatos adultos, até no máximo 40 células/ μ L para neonatos. Cowell & Decker (2000) consideram uma basofilia acima de 200 basófilos por microlitro em concomitância com eosinofilia, associada a condições alérgicas, dirofilariose, complexo granuloma-eosinofílico, leucemia basofílica ou mielóide e policitemia vera.

Os valores encontrados para basófilos ultrapassaram as 200 células/ μ L aos 10 e 31 dias de idade (Tabela 20, Gráfico 11), embora não fosse observada uma eosinofilia associada. Esses valores, assim como para monócitos nos gatos neonatos, provavelmente não diferem dos adultos.

O aspecto comparativo, entre a presente pesquisa e os diversos autores, está presente tabela 41.

TABELA 41 - Comparação entre valores de referência do hemograma para neonatos felinos saudáveis obtidos no presente trabalho e os diversos autores.

AUTOR	FAIXA ETÁRIA	ERITRO (x 10 ⁶ /μ)	HGL (g/dL)	VG (%)	VCM (fL)	CHCM (%)	LEUCÓCITOS (x 10 ³ /μ)	BAST	NEUT (x 10 ³ /μ)	LYMF (x 10 ³ /μ)	MONO	EOS	BASO
CLINKENBEARD & MEINKOTH (2001)	ADULTOS	5,0-10,0	8,0-15,0	24,0-45,0	39,0-55,0	31,0-35,0	5,5-19,5	0-300	2,5-12,5	1,5-7,0	0-850	0-1500	raros
	0-2sem	5,5-5,0	11,5-12,7	33,6-37,0	65,5-69,3	33,7-35,3	9,1-10,2	40-80	5,3-6,7	3,2-4,2	0-20	500-1400	10-30
	2-4sem	4,6-4,8	8,5-8,9	25,7-27,3	52,7-55,1	32,5-33,5	14,1-16,5	70-150	6,2-7,7	6,0-7,1	0-40	1200-1600	0
	0-2sem	4,81-5,77	10,9-13,3	31,9-38,7	63,6-71,2	32,9-36,1	8,53-10,81	20-100	4,6-7,32	2,69-4,77	0-30	100-1820	0-40
MEYERS-WALLEN (1984)	2-4sem	4,47-4,87	8,3-9,1	24,9-28,1	51,5-56,3	31,0-34,0	12,89-17,73	30-190	5,38-8,46	5,38-7,74	0-60	1080-1720	--
	4-6sem	5,43-6,35	8,0-9,2	25,5-28,7	43,0-48,2	30,7-33,1	14,71-20,19	80-320	6,27-12,87	4,87-7,95	--	970-1970	--
JAIN (1993)	0-6 horas	4,95	12,2	44,7	90,3	27,3	7,55	--	--	--	--	--	--
	12-48 horas	5,11	11,3	41,7	81,6	27,1	10,18	--	--	--	--	--	--
	7 dias	5,19	10,9	35,7	68,8	30,5	7,83	--	--	--	--	--	--
	14 dias	4,76	9,7	31,1	65,3	31,2	8,08	--	--	--	--	--	--
	21 dias	4,99	9,3	31,3	62,7	29,7	8,82	--	--	--	--	--	--
	28 dias	5,84	8,4	29,9	51,2	28,1	8,55	--	--	--	--	--	--
MURTAUGH(1994)	42 dias	6,75	9,0	35,4	52,4	25,4	8,42	--	--	--	--	--	--
	0-2sem	5,29	12,1	35,3	66,7	34,2	9,67	60	5,96	3,73	10	960	--
	2-4sem	4,67	8,7	26,4	56,5	32,9	15,31	110	6,92	5,56	20	1400	--
	4-6sem	5,89	8,6	27,1	45,8	31,7	17,45	200	9,57	6,41	0	1470	--
HOSKINS (2001)	0-2sem	5,05-5,53	11,5-12,7	33,6-37,0	65,5-69,3	33,7-35,3	9,1-10,24	40-80	5,28-6,64	3,21-4,25	0-20	530-1390	10-30
	2-4sem	4,57-4,77	8,5-8,9	25,7-27,3	52,7-55,1	32,5-33,5	14,1-16,52	70-150	6,15-7,69	5,97-7,15	0-40	1240-1560	0
	4-6sem	5,66-6,12	8,3-8,9	26,3-27,9	44,3	31,3-32,5	16,08-18,82	140-260	7,92-11,22	5,64-7,18	0	1220-1720	0
MINOVICH (2003)	2 sem	----	----	34-37	----	----	9-10	0-0,1	5-7	3-4	0	0-2000	0
	4 sem	----	----	26-27	----	----	14-17	0-0,2	6-8	6-7	0	1000	0
	6 sem	----	----	26-28	----	----	16-19	0-0,3	8-11	6-7	0	1000	0
	8 sem	----	----	29-31	----	----	16-20	0-0,3	6-8	8-11	0	1000	0
LOURENÇO (2004)	3 dias	4,81	12,96	37,80	78,66	33,72	7,24	--	3,06	3,24	166	757,50	182,30
	10 dias	3,45	8,52	24,35	71,49	33,66	11,57	--	5,32	4,91	205	594,30	215,25
	17 dias	3,66	7,58	21,85	60,29	33,17	11,92	--	6,04	3,80	433	1524,80	98,05
	24 dias	3,73	6,97	19,65	53,73	35,86	13,45	--	6,90	4,64	299	1060,20	66,20
	31 dias	4,05	6,82	20,70	49,15	33,53	16,05	--	8,96	3,91	255	1037,50	252,30
	38 dias	4,82	7,50	24,80	51,38	30,26	15,91	--	9,00	4,09	574	1287,50	153,95

5.1.3. GLICEMIA, ALT E GGT

Apesar da imaturidade hepática se refletir não somente no processo de biotransformação e biodisponibilidade dos fármacos, mas também nos níveis glicêmicos, os valores encontrados para a glicemia durante a pesquisa não sofreram influência da faixa etária, mantendo-se constante nos neonatos com três, 10, 17, 24, 31 e 38 dias de idade. Aos três dias de idade, obteve-se o maior valor para glicemia, cerca de 137,80 mg/dL, a partir de então os valores mantiveram-se acima de 120,00 mg/dL (Tabela 27, Gráfico 15).

Os valores da glicemia estiveram sempre dentro da referência descrita para adultos por Kaneko (1997), de 73 a 134mg/dL, contudo superiores aos descritos para neonatos por Hoskins (2001) e Moon (2001). Os valores encontrados foram também superiores aos de Minovich (2003), que observou que os neonatos felinos apresentam níveis glicêmicos semelhantes aos maternos ao nascimento e uma estabilização dos níveis em 70 mg/dL após 72 horas ou três dias após.

Acredita-se que a manutenção de níveis glicêmicos elevados nesta pesquisa deve-se a alguns fatos: impossibilidade de comparação da metodologia utilizada pelos diversos autores por estas não serem citadas; o jejum prévio ao qual os neonatos foram submetidos, de aproximadamente uma hora e trinta minutos, não sendo, portanto, suficiente para que houvesse uma depleção nos níveis, uma vez que Poffenbarger et al. (1990), cita que a glicemia pode ser mantida por até 24 horas de

jejum num neonato saudável; e talvez também a imaturidade da resposta da glicemia à insulina contribua para este fato.

Os valores de ALT encontraram-se dentro da referência descrita por Kraft (1995) e Mähler & Neuman (1996) para adultos e também para neonatos, sofrendo influência da idade em seus níveis séricos, apresentando uma elevação até por volta de um ano de idade.

Os valores de ALT apresentaram uma diminuição do terceiro ao 17º dia, de 22,90 a 17,80 UI/L (Tabela 25, Gráfico 13), e a partir de então uma elevação discreta chegando a 29,10 UI/L no 38º dia. É provável que a atividade sérica enzimática da ALT aumente de acordo a idade de desenvolvimento do metabolismo hepático, como mencionado pelos os autores (KANEKO, 1997; STURGESS, 2000; HOSKINS, 2001) contudo, uma avaliação semanal por um período mais longo se faz necessária para a comprovação.

Das três variáveis analisadas no perfil bioquímico, apenas a GGT sofreu influência da idade, apresentando uma elevação constante até por volta do 31º dia, quando a partir de então apresentou uma queda. (Tabela 42)

Embora Kaneko (1997) refira que a enzima GGT nas espécies bovina, ovina e canina, possa ser encontrada em grandes quantidades no colostro, e conseqüentemente no soro dos neonatos, Hoskins (2001) não menciona este fato para a espécie felina, referindo que o aumento da atividade sérica de GGT bem como de FAL, não pode ser utilizado para a detecção de falha da imunidade passiva nesta espécie.

Os valores obtidos para GGT durante a pesquisa, realmente deixam bem clara a ineficiência desta enzima como indicador da ingestão do colostro na espécie felina. Aos três dias de idade, o valor obtido foi de 0,55 UI/L (Tabela 26, Gráfico 14), sendo bem discrepante daquele descrito por Hoskins (2001) para cães com a mesma faixa etária, cerca de 1111 (UI/L).

A atividade sérica enzimática da GGT esteve sempre dentro dos limites de referência descritos por diversos autores, tanto para neonatos como para adultos, com exceção dos descritos por Peterson (1983) e Moon (2001), que referiram valores bem inferiores aos encontrados. Acredita-se que esta discrepância seja em razão da técnica utilizada para realização do exame e que não foi descrita por estes autores.

Os valores obtidos durante a pesquisa para GGT, foram semelhantes aos mencionados por Kraft (1995) e Mähler & Neumann (1996). Quanto às variações relativas à evolução da idade dos neonatos, os valores encontrados foram discordantes, uma vez que observou-se elevação dos mesmos até o 31º dia, quando então, iniciou-se uma queda.

Durante a realização do experimento, os neonatos apresentaram-se bem sem qualquer indício de disfunção hepática (desordem colestática). Acredita-se, portanto, assim como referido por Pearson (1990), que a variação da atividade sérica enzimática seja fisiológica e corresponda justamente ao desenvolvimento dos ductos biliares no período neonatal.

TABELA 42 - Comparação entre valores de referência para alanina aminotransferase, Gama glutamiltransferase e glicose para neonatos felinos saudáveis do presente trabalho e os diversos autores.

AUTORES	FAIXA ETÁRIA	ALT (UI/L)	GGT (UI/L)	GLICOSE (mg/dL)
PETERSON (1983)	ADULTOS	10,0-80,0	0,3-0,2	-
KANEKO (1997)	ADULTOS	6,0-83,0	1,3-5,1	73-134
KRAFT (1995)	0-3 meses	30	3,1	-
MÄHLER (1996)	6-8 sem 9-24 sem	32,44 48,41	0 0	- -
HOSKINS (2001)	2 sem 4 sem	11,0-24,0 14,0-26,0	0-3,0 0-3,0	76-129 99-112
MOON (2001)	2 sem 4 sem	18,0 16,0	1,0 2,0	117,0 110,0
MINOVICH (2003)	2 sem 4 sem	11-24 14-26	--- ---	76-129 99-112
LOURENÇO (2004)	3 dias	22,9	0,55	137,80
	10 dias	19,4	1,71	128,80
	17 dias	17,80	2,19	126,60
	24 dias	23,30	2,41	127,30
	31 dias	25,40	2,63	124,90
	38 dias	29,10	1,52	124,90

5.1.4 PROTEÍNAS TOTAIS E PROTEINOGRAMA

Durante as seis semanas, houve uma elevação nos níveis protéicos séricos das proteínas totais. Aos três e aos 10 dias, a proteína sérica (Tabela 31, Gráfico 16) manteve-se discretamente abaixo dos valores considerados para adultos (5,4 a 7,8 g/dL) de acordo com Keay (1982), Buening (1988), Baker e Valli (1988) e por Kaneko (1997). Por outro lado, esses mesmos valores estiveram de acordo com os autores que os descreveram para neonatos e para gatos jovens (KRISTENSEN & BARSANTI, 1977; McMICHAEL, 2000; HOSKINS, 2001). Este fato poderia ser explicado pela taxa de anabolismo protéico, não acompanhar o amplo crescimento e desenvolvimento corpóreo do neonato durante as primeiras semanas de vida.

Provavelmente, os valores séricos protéicos estivessem ainda mais baixos antes da ingestão do colostro; deste modo, uma avaliação prévia à ingestão, enriqueceria ainda mais o estudo da influência da idade nos neonatos felinos no que se refere à avaliação das proteínas séricas.

A partir do 17º dia em diante, a proteína sérica total apresentou uma elevação até o 31º, quando então permaneceu constante, sendo que os valores séricos permaneceram dentro da faixa de referência para adultos, embora discretamente acima para neonatos. Este fato se deve provavelmente à influência da lipemia que se observava no soro dos

neonatos. Embora os animais fossem deixados em jejum prévio, cerca de uma hora e trinta minutos antes das colheitas, o soro ainda permanecia lipêmico, colaborando possivelmente para a medição menos acurada.

Na literatura consultada, não foram encontrados trabalhos que avaliassem o proteinograma de maneira seriada (semanalmente) em gatos neonatos para uma possível comparação com a presente pesquisa. Conseqüentemente, os valores encontrados foram equiparados com os descritos em gatos adultos, tomando-se por base o comportamento eletroforético descrito em neonatos de outras espécies, como a canina (WOLFORD et al., 1988), caprina (BARIONI, 2003), bovina (FAGLIARI, 1988; BORGES, 1997; COSTA, 2000) e humana (CELM, 1999).

Para a correta interpretação dos resultados obtidos no traçado eletroforético, é necessário ter conhecimento dos seus valores normais (Tabela 43), bem como conhecer as variações fisiológicas que ocorrem com as proteínas séricas no recém-nascido e durante o período pediátrico. Com esses valores em mãos, pode-se observar vários processos patológicos que influenciam no traçado eletroforético do proteinograma (CELM, 1999).

Durante o fracionamento eletroforético das proteínas séricas foram avaliadas, neste estudo, apenas quatro frações protéicas: albumina, alfa-globulina, beta-globulina e gama-globulina. Embora o fracionamento tenha revelado a presença de diferentes sub-frações protéicas, cerca de oito a nove, de acordo com o descrito para gatos adultos por

Keay & Doxey (1982) e por Baker & Valli (1988), a descrição do perfil eletroforético, não foi realizado por não constar dos objetivos deste estudo.

Os valores da albumina, durante todos os períodos analisados, estavam dentro das referências para animais adultos. Aos três, 10 e 17 dias, a albumina permaneceu também dentro dos limites de referência considerados para neonatos até quatro semanas de idade por McMichael (2000) e para gatos acima de seis meses por Kristensen & Barsanti (1977).

Nas duas semanas subsequentes, houve um aumento da albumina, como mencionado para outras espécies, como bovina por Borges (1997), a canina por Wolford et al. (1988), a caprina por Barioni (2003) e Costa (2000) e também na espécie humana (CELM, 1999).

Aos 38 dias de idade, ocorreu uma queda da albumina juntamente com a diminuição da proporção A : G, consistente com uma discreta elevação da fração globulina (alfa e gama). A razão para esta mudança nas frações de globulinas está presumivelmente relacionada ao desenvolvimento do sistema imunológico.

A fração alfa-globulina apresentou-se em todos os momentos avaliados dentro dos padrões de referência para adultos, mas acima da média mencionada para filhotes acima de seis meses de idade por Kristensen & Barsanti (1977).

A ausência de valores descritos na literatura, para neonatos felinos de maneira seriada, dificultou a interpretação dos resultados, e

principalmente colaborou para a não determinação das sub-frações protéicas, pesquisa esta que terá prosseguimento futuro.

Os valores para alfa-globulina estavam, aos três dias, abaixo das médias consideradas por Keay (1982), Buening (1988) e Baker & Valli (1988), mas dentro dos limites de referência de Kaneko (1997), embora a técnica utilizada seja diferente. Não foi observada concentração elevada desta fração, como citada em neonatos caprinos por Barioni (2003), resultante da síntese protéica neonatal e da presença de α_1 -fetoproteína. Nos humanos, grande parte das sub-frações de alfa-globulina, com exceção da α_2 -macroglobulina, encontra-se diminuída no período neonatal e pediátrico.

Segundo Wolford et al. (1988), a sub-fração alfa₁-globulina apresenta-se elevada ao nascimento, demonstrando uma queda nas primeiras seis semanas como descrita por Chuang (2001). Infelizmente a não divisão em sub-frações não permitiu a comparação dos resultados com os descritos por estes autores. A concentração de alfa-globulina demonstrou uma elevação constante até por volta do 17º dia quando a partir de então se manteve estável até o 38º dia.

A fração beta-globulina apresentou comportamento semelhante ao da alfa-globulina estando dentro das referências para adultos e para filhotes. Os valores elevaram-se até o 24º dia e mantiveram-se estáveis até o 38º dia. Este comportamento demonstrou semelhança com o descrito para espécie caprina e também para os humanos. Provavelmen-

te, a sutil elevação desta fração do traçado eletroforético, seja reflexo do desenvolvimento hepático, uma vez que grande parte da síntese protéica se origina no fígado.

A fração gama-globulina demonstrou-se bem inferior aos níveis referidos para adultos e também para gatos jovens (maiores que seis meses). Devido às concentrações reduzidas de gama-globulina no terceiro dia de idade, é provável que a concentração desta fração protéica fosse praticamente nula antes da ingestão do colostro, como mencionado por Yamada et al. (1991). Segundo estes autores, não foram detectados níveis de gama-globulina no feto e no neonato antes da ingestão do colostro.

Uma semana após o primeiro momento da avaliação por eletroforese, isto é, no décimo dia, houve uma queda estatisticamente acentuada nos níveis de gama-globulina que se manteve constante embora com discreto declínio até o 24º dia. Este comportamento esteve de acordo com os autores consultados e em todas as espécies. Segundo Yamada et al. (1991), o declínio da imunidade adquirida nos gatos inicia-se a partir do terceiro dia de vida, sendo que o ponto mais baixo de concentração de IgG ocorre por volta de 20 a 25 dias. A partir do 31º dia, houve uma elevação discreta na concentração de gama-globulina e no 38º dia, um aumento estatisticamente considerável próximo dos valores obtidos no terceiro dia, provavelmente correspondendo ao início da síntese das próprias imunoglobulinas.

Um estudo mais detalhado, em que se avaliasse o perfil eletroforético com técnicas de alta sensibilidade de fracionamento e a determinação dos níveis de imunoglobulinas (imunoeletroforese ou imunodifusão radial), tanto materna como no neonato previamente à ingestão do colostro e até 30 dias, complementaria esta pesquisa, fornecendo informações mais detalhadas. Momentaneamente, a descrição do proteograma em gatos neonatos e o estabelecimento de seus valores fisiológicos nesta faixa etária, ainda não descritos, auxiliam na determinação de vários processos patológicos que influenciam no traçado eletroforético.

TABELA 43 - Comparação entre valores de referência para a proteína e o proteinograma para gatos neonatos do presente trabalho e os diversos autores.

AUTORES	FAIXA ETÁRIA	PROTEÍNA SÉRICA (g/dL)	ALBUMINA	ALFA-GLOBULINA	BETA-GLOBULINA	GAMA-GLOBULINA
KEAY (1982)	Adultos	7,46	3,41	1,54	0,93	1,58
BUENING (1988)	Adultos	6,2	3,0	1,43	0,52	1,26
BAKER & VALLI (1988)	Adultos	7,27	3,62	1,32	0,93	1,40
KANEKO (1997) (acetato de celulose)	Adultos	5,4-7,8	2,1-3,3	0,6-2,0	0,9-1,9	1,7-2,4
KRISTENSEN & BAR-SANTI (1977)	>6 meses	6,61	2,65	1,49	0,93	1,56
McMICHAEL (2000)	2-4 sem	4,0-5,2	2,0-2,4	---	---	---
HOSKINS (2001)	2-4 sem	4,8	---	---	---	---
LOURENÇO (2004)	3 dias	4,87	2,41	1,03	0,74	0,69
	10 dias	4,99	2,20	1,47	0,84	0,48
	17 dias	5,29	2,22	1,74	0,97	0,36
	24 dias	5,80	2,83	1,67	0,98	0,32
	31 dias	5,89	2,94	1,63	0,94	0,38
	38 dias	5,89	2,57	1,71	0,93	0,68

5.2 INFLUÊNCIA DA LUTEÍNA

5.2.1 ERITROGRAMA

A suplementação com luteína influenciou, de maneira significativa algumas variáveis que compõem o eritrograma. A concentração de hemoglobina, o volume globular e a concentração de proteína plasmática foram superiores no grupo suplementado em relação ao grupo controle, em praticamente todos os momentos avaliados.

Os valores mais elevados nos animais suplementados, da concentração de hemoglobina e do volume globular, contudo, não foram acompanhados pela contagem total de eritrócitos, pelo VCM ou mesmo pelo CHCM, como seria de se esperar.

Os valores hematológicos encontrados aos três dias de idade, ou seja, previamente à suplementação com luteína, já eram superiores no grupo suplementado quando comparado ao controle, nas três variáveis influenciadas do eritrograma. A presença de valores mais elevados de hemoglobina e do volume globular nos animais suplementados poderia ser apenas a manutenção dos níveis anteriores, já superiores.

Os animais suplementados também demonstraram uma queda a partir da segunda semana, na concentração de hemoglobina e no volume globular, como seria de se esperar pela substituição dos eritró-

citos fetais pelos neonatais e pela síntese de hemoglobina incapaz de acompanhar a demanda de eritrócitos neoformados.

Kaneko (1997) já referia que as injúrias oxidativas reduzem a meia-vida do eritrócito, e grande parte dos oxidantes é gerada dentro das células, causando mais danos à hemoglobina presente do que à membrana celular. O resultado das injúrias oxidativas resume-se à formação de metemoglobina e subseqüentemente de corpúsculos de Heinz, que podem ser identificados por meio do esfregaço sanguíneo. O gato, para Kaneko (1997), é a espécie doméstica mais suscetível às injúrias oxidativas e posterior desnaturação da hemoglobina

Segundo Harper (2001), a suscetibilidade dos gatinhos ao estresse oxidativo aumenta com o progredir da idade, sendo, portanto, o período de lactação o de maior status antioxidativo da vida. Não se esperaria então, que durante o período neonatal os animais fossem submetidos a danos oxidativos tão proeminentes com o aparecimento de corpúsculos de Heinz, particularmente pelo fato de o leite materno agir como uma fonte de antioxidantes.

É, portanto, provável que a utilização da luteína no período neonatal seja desnecessária, particularmente no que se refere à proteção a danos oxidativos da hemoglobina. Uma vez que a avaliação de outros parâmetros, como a glutathione eritrocitária reduzida e a fragilidade osmótica eritrocitária, poderia esclarecer melhor a atuação do carotenóide

no metabolismo eritrocitário durante este período de desenvolvimento do gato.

Tanto a concentração de hemoglobina quanto o volume globular apresentaram decréscimo durante as quatro semanas, sendo o pico mais baixo no 31º dia quando a partir de então, houve uma inversão. Neste momento, os animais suplementados apresentaram valores menores quando comparados aos do controle e, na semana subsequente, os valores foram novamente superiores no caso da concentração de hemoglobina e igualaram-se no volume globular. Este fato comprova que a variação ocorrida nestas variáveis nos animais suplementados deveu-se provavelmente, aos valores iniciais superiores previamente à suplementação, não demonstrando importância clínica.

A concentração de proteína plasmática apresentou-se também elevada durante todo o período analisado nos dois grupos. Os animais suplementados com a luteína apresentaram as concentrações mais elevadas, contudo os valores iniciais antes da suplementação também foram maiores. A magnitude da concentração foi maior nos animais com a luteína em relação ao controle, o que seria interessante, especialmente se a fração protéica elevada fosse a de beta ou gama-globulinas. Contudo, a concentração de proteína sérica e o fracionamento eletroforético, discutidos posteriormente, deixam claro que este sutil aumento foi ilusório.

As demais variáveis do eritrograma, como O VCM o CHCM e a contagem total de eritrócitos, não foram influenciadas pela suplementação com luteína no período de 38 dias.

5.2.2 LEUCOGRAMA

Em relação ao leucograma dos neonatos felinos suplementados, a luteína não influenciou quantitativamente a contagem total de leucócitos, o número absoluto de neutrófilos, linfócitos ou eosinófilos. Embora não tenham ocorrido diferenças estatísticas, uma discreta elevação foi notada no grupo suplementado em relação aos leucócitos totais e neutrófilos particularmente.

Alguns estudos realizados por Kim (2000 a; 2000b), em filhotes de cães e gatos, demonstraram a capacidade de estimulação da luteína no perfil imunológico: como a reação de hipersensibilidade tardia, o número de linfócitos T CD₄, a produção de imunoglobulina IgG, a proliferação de linfócitos induzida por mitógenos, aumento na porcentagem de CD5, CD4 e CD8 e de IgG após a estimulação antigênica. Obviamente a comparação com estes autores não seria interessante, uma vez que as análises realizadas durante esta pesquisa não tiveram o intuito de avaliar o perfil imunológico sobre a ação da suplementação no período neonatal, em gatos.

Segundo Klein (2004), a suplementação de neonatos caninos com luteína a 20% até 45 dias de idade não promoveu qualquer mudança quantitativa na contagem total de leucócitos nem mesmo nas sub-populações linfocitárias. Outro estudo, sobre a suplementação de gatos por 12 semanas com diferentes doses de luteína, demonstrou que esta substância não exerceu efeito na população total de linfócitos, CD8 e de IgG (KIM, 2000b). Por outro lado, Harper (2000) obteve resultados satisfatórios em relação à proliferação de linfócitos por mitógenos e um maior título de anticorpos com a suplementação de gatos idosos.

O tempo de suplementação da pesquisa com a luteína (31 dias) pode não ter sido suficiente para que ocorresse qualquer mudança mais relevante na contagem leucocitária, particularmente nos linfócitos. A continuidade futura da pesquisa, além do período neonatal, com um estímulo vacinal aos 60 dias de idade, poderia fornecer maiores esclarecimentos sobre a elevação do valor absoluto de linfócitos nos animais suplementados.

Ao contrário do que se esperaria, a luteína exerceu influência apenas sobre a contagem absoluta de basófilos, mantendo-a elevada até o 31º dia de avaliação, acima dos valores do grupo controle. Os valores iniciais, previamente à suplementação, dos dois grupos analisados, foram diferentes, e o grupo da luteína apresentava-se mais elevado; contudo, no decorrer das semanas, percebeu-se diferença estatística entre os dois grupos, sendo os do grupo suplementado mais elevados. A adminis-

tração da luteína teve seu término no 31º dia e, uma semana após (no 38º dia) foi nítida a queda na contagem diferencial de basófilos, igualando-se aos do grupo não suplementado. Como a incorporação da luteína ao plasma ocorre de maneira rápida, seis horas após a ingestão, e sua meia-vida plasmática, cerca de 20 horas (CHEW, 1996), a elevação durante a suplementação e o decréscimo da contagem de basófilos após uma semana do término podem estar estritamente ligados à influência da luteína.

O carotenóide luteína exerce efeitos no sistema imunológico agindo como imunomodulador e, embora seus efeitos demonstrem a estimulação das reações de hipersensibilidade tardia, tanto no cão como no gato, como descrito por Kim (2000 a,b), nada tem sido descrito sobre a reação de hipersensibilidade imediata. A elevação do número de basófilos nos neonatos suplementados pode estar relacionada com este tipo de resposta imunológica, uma vez que este tipo celular juntamente com os mastócitos são células efectoras da reação de hipersensibilidade imediata.

A avaliação do perfil imunológico, do status antioxidante, bem como a dos níveis plasmáticos de luteína nos neonatos felinos, seria de fundamental importância para maiores conclusões sobre o uso deste importante carotenóide numa fase tão precoce da vida. Pesquisas com a suplementação continuada pelo período pediátrico, ou mesmo quem sabe, durante o período gestacional, poderiam futuramente ser realizadas.

Grande parte das pesquisas encontradas sobre a luteína tem fundamento na investigação do mecanismo de ação intracelular deste

carotenóide em diversas espécies, tomando por base sua utilização futura como antioxidante e imunomodulador. Embora de caráter mais simples mas não de menor importância, a pesquisa básica aplicada sobre os efeitos da suplementação com a luteína no hemograma, nas enzimas hepáticas, na glicemia e no proteinograma é talvez, o início do primeiro passo para complementar a lacuna que se estabeleceu entre o mecanismo de ação e os possíveis efeitos da administração prolongada em diferentes faixas etárias.

5.2.3 GLICEMIA, ALT E GGT

A influência da suplementação com luteína na glicemia não foi notada. A glicemia permaneceu durante todo o período neonatal, inalterada nos dois grupos avaliados, não demonstrando portanto qualquer efeito da suplementação no metabolismo da glicose.

Apesar de não haver diferenças quantitativas, o grupo suplementado apresentou um comportamento que tendeu à elevação da concentração sérica de GGT, contrariamente do que se esperaria de acordo com Lim et al. (2004). Segundo este autor, a GGT apresenta perspectivas futuras como um biomarcador dos níveis de antioxidantes endógenos nos humanos, sendo que seus níveis séricos, dentro da normalidade, indicariam níveis adequados de antioxidantes e consequentemente um menor estresse oxidativo. Como a dosagem dos níveis de antioxidantes não foi realizada nesta pesquisa, a extrapolação da relação entre GGT

e antioxidantes endógenos não pode ser concluída, contudo a tendência à elevação dos níveis séricos de GGT nos animais suplementados, faz-se supor que esta relação seja diferente no período neonatal ou mesmo na espécie felina.

Em relação à enzima ALT, existiu uma interação significativa entre o momento analisado e a suplementação com luteína. No terceiro dia antes da suplementação, os níveis séricos desta enzima nos neonatos que receberiam a luteína já se apresentavam mais elevados, não se podendo, portanto, considerar clinicamente significativo, embora o fosse estatisticamente. No 17º dia, uma diferença quantitativa também foi observada, e o grupo com luteína apresentou um decréscimo menor em relação à semana anterior quando comparado aos animais do controle, fato este provavelmente associado ao início do desmame. Apesar da interação, os valores encontrados estavam de acordo com os descritos para gatos nesta faixa etária, não demonstrando, portanto, sinal de toxicidade ou dano hepático.

A suplementação da luteína em gatos no período neonatal não demonstrou efeitos sobre a atividade enzimática da GGT, ALT ou da glicemia, sendo, portanto, o uso da luteína adequado no período neonatal, no que se refere ao perfil enzimático analisado. A falta de trabalhos semelhantes descritos na literatura impossibilitou a comparação dos dados desta pesquisa com outros.

5.2.4 PROTEÍNAS TOTAIS, PROTEINOGRAMA E PESO

As proteínas totais e a fração beta e gama-globulina do proteinograma não sofreram influência da suplementação com luteína durante o período neonatal, como se esperaria, uma vez que englobam grande parte das imunoglobulinas (KANEKO, 1997; JAIN, 1986). De acordo com Kim (2000 a, b), Massimino (2001) e Harper (2001), a suplementação dietética é benéfica e promove um aumento da produção de anticorpos; contudo, grande parte das pesquisas foi realizada diante de um desafio vacinal após a suplementação. Portanto, a suplementação com luteína, em neonatos felinos durante o período neonatal não influenciou as frações protéicas beta e gama globulina e provavelmente os níveis de anticorpos, na ausência de um estímulo vacinal.

Uma interação significativa entre o momento analisado, e o tratamento ocorreu novamente no 17º dia, em relação à concentração relativa e absoluta de albumina e relativa de alfa-globulina. Nos neonatos do grupo controle, a concentração de albumina demonstrou uma queda acentuada aos 17 dias, contudo manteve-se estável nos animais suplementados. A razão para tal comportamento eletroforético não foi encontrada; contudo, cabe ressaltar que este período coincide com o início do desmame.

O crescimento e o desenvolvimento dos neonatos suplementados não foram influenciados pela suplementação com luteína. Este fato foi perceptível na manutenção do peso corpóreo semelhante em todos os neonatos da pesquisa.

5.3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os filhotes são submetidos a algumas situações potencialmente estressantes durante o primeiro ano de vida, como, por exemplo, o desmame, as mudanças de ambiente, as visitas ao veterinário, vacinas e viagens. Apesar de a proteção materna conferida pelo colostro (cerca de 80 a 95%) e por passagem transplacentária (5 a 20%) assegurar um certo grau de imunidade ao filhote enquanto seu próprio sistema imunológico se desenvolve, o término do período neonatal e o início do pediátrico são fases de suscetibilidade a uma ampla gama de infecções.

Diversos estudos demonstram ser possível o fortalecimento do sistema imunológico com a administração de um coquetel de antioxidantes a partir do desmame, sob a forma de suplementação dietética. Grande parte das pesquisas inicia-se a partir do desmame com a introdução de alimentos sólidos coincidindo com o período vacinal e avaliam principalmente os níveis séricos de anticorpos.

Não foram descritos, na literatura consultada, trabalhos referentes ao período neonatal com a modulação precoce do sistema imune, tornando-o mais apto ao estímulo vacinal, e nem mesmo o possível efeito desta imunomodulação nos perfis hematológicos e nos parâmetros de avaliação da função hepática (enzimas, glicemia e proteínas).

A perspectiva de se estimular precocemente o sistema imunológico é algo bastante interessante se levar em consideração o fato

de que a suplementação com antioxidantes como a luteína requer um certo tempo para que a magnitude da resposta imune seja adequada.

Longe de ser um estudo sobre a função imunológica mediante a utilização da luteína no período neonatal, esta tese se propôs apenas ao caráter investigatório das perspectivas futuras da luteína. Para tanto, se avaliaram, inicialmente, os possíveis efeitos deste antioxidante no perfil hematológico, uma vez que a luteína é incorporada pelas células sanguíneas, e no perfil hepático, já que sua metabolização é por esta via.

Por meio desta pesquisa, muitas dúvidas e proposições surgiram tais como a continuidade do estudo mediante a avaliação dos níveis séricos e intracelulares de luteína nos filhotes suplementados, a realização de ensaios *in vivo* para a avaliação da função imunológica dos neonatos como a reação de hipersensibilidade tardia, os níveis de anticorpos mediante ao estímulo vacinal, a resposta à injeção de antígenos desconhecidos, os níveis de anticorpos circulantes e a população de linfócitos circulantes. A possibilidade dos testes *in vitro* como a resposta à estimulação por mitógenos, os ensaios imunológicos com às células *natural killer* e a produção de citocinas também foram cogitados na continuidade futura desta linha de pesquisa com a luteína no período neonatal.

Nesta pesquisa, os resultados demonstraram a possibilidade de utilização da luteína como antioxidante, indicando a necessidade de pesquisas futuras avaliando-se o metabolismo antioxidativo orgânico como a determinação da atividade sérica da ceruloplasmina, da glutathione

reduzida e obviamente por tratar-se de um antioxidante, o metabolismo oxidativo dos neutrófilos. Portanto, a avaliação dos efeitos da luteína no hemograma, nas enzimas hepáticas, na glicemia e no proteinograma em neonatos felinos, do nascimento aos 38 dias de idade, é apenas uma introdução no vasto universo de pesquisas a serem realizadas com a luteína na fase neonatal.

Durante a realização deste estudo, uma dúvida surgiu: seria o período neonatal, caracterizado por certo grau de imaturidade de todos os sistemas orgânicos, a melhor fase para se estimular tão precocemente o sistema imunológico? Apesar da imaturidade hepática e hematológica, a luteína não apresentou efeitos deletérios inicialmente. Cabe então, a partir dos resultados obtidos, avaliar as possibilidades da luteína agir como imunoestimulante, mediante ao estímulo vacinal e como antioxidante.

6. Conclusões



Segundo a avaliação da influência da idade e da luteína no hemograma, nas enzimas hepáticas, na glicemia e no proteinograma em neonatos felinos, do nascimento aos 38 dias de idade, nas condições experimentais em que esta pesquisa foi realizada, pode-se concluir que:

1. A idade exerce influência no eritrograma, no leucograma com exceção do número de linfócitos (absoluto e relativo) e de monócitos (absoluto e relativo).
2. A idade exerce influência na atividade sérica da enzima GGT e não influencia a atividade sérica da enzima ALT e nem a glicemia.
3. A atividade sérica da enzima GGT não pode ser utilizada como indicador da ingestão de colostro em gatos neonatos.
4. A idade exerce influência nas concentrações séricas da proteína total e no proteinograma.
5. A suplementação com luteína não influencia: o eritrograma e o leucograma com exceção do número absoluto de basófilos.
6. A suplementação com luteína não influencia a atividade sérica de ALT, da GGT e da glicemia.

7. A suplementação com luteína não influencia as proteínas totais, o ganho de peso e o proteinograma com exceção da fração albumina (relativa e absoluta).

7. Referências Bibliográ-



- ABBAS, A. K., LICHTMAN, A. H., JORDAN, S. P. Effector mechanisms of humoral immunity. In: ABBAS, A. K., LICHTMAN, A. H., JORDAN, S. P. **Cellular and molecular immunology**. Philadelphia: Saunders, 2000. p. 332.
- BAGGOT, J. D. **The physiological basis of veterinary clinical pharmacology**. Iowa: Blackwell Science, 2001. 296p.
- BAKER, R. J., VALLI, V. E. O. Electrophoretic and immunoelectrophoretic analysis of feline serum proteins. **Can. J. Vet. Res.**, v. 52, p. 308-14, 1988.
- BARIONI, G. **A influência da idade e da suplementação com vitamina E (acetato de dl-alfa-tocoferol) sobre o hemograma, proteinograma, imunoglobulina G, fragilidade osmótica e metabolismo oxidativo eritrocitário em caprinos da raça Saanen**. Botucatu, 2003. 156p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.
- BENDICH, A., SHAPIRO, S. S. Effect of β -carotene and canthaxanthin on the immune responses of the rat. **J. Nutr.**, v. 116, p. 2254-62, 1986.
- BOREL, P.; GROLIER, P.; ARMAND, M. Carotenoids in biological emulsions: solubility, surface-to-core distribution, and realease from lipid droplets. **J. Lipid Res.** v. 37, p. 250-61, 1996.

* UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA. Coordenadoria geral de Bibliotecas. **Normas para publicações da UNESP**. São Paulo: Editora UNESP, 1994. v.2: Referências Bibliográficas. BIOSIS. **Serial sources for the BIOSIS preview database**. Philadelphia, 1996. 468p.

BORGES, A. S. **Avaliação da eficácia da administração de plasma por via intravenosa, como tratamento da falência de transferência de imunidade passiva em bezerros da raça Holandesa.** 1997. 84p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.

BORTNICK, S. J., ORANDLE, M. S., PAPADI, P., JOHNSON, M. Lymphocytes Subsets in neonatal and juvenile cats: comparison of blood and lymphoid tissues. **Lab. Anim. Sci.** , v. 49, p. 395-400, 1999.

BOSTEDT, H., WOSNIK, M., HOSPES, R. Influence of normal parturition on activity of clinical relevant enzymes in blood plasma of goats and kids. **Deutsche Tierärztliche Wochenschrift**, v. 104, p. 350-4, 1997.

BROW, C. M.; PARK, J. S.; CHEW, B. P.; WONG, T. S. Dietary lutein inhibits mouse mammary tumor growth by regulation angiogenesis and apoptosis. **Faseb J.** v. 15, p. a954, 2001.

BUENING, G. M. Use of serum protein electrophoresis in small animal practice. p. 13-6, 1988.

CHEW, B.P.; Role of carotenoids in the immune response. **J. Dairy Sci.** , v. 76, p. 2804-11, 1993.

_____.; Antioxidant vitamins affect food animal immunity and health. **J. Nutr.** , v. 125, n. 65, p. 1804s-8, 1995.

_____.; WONG, M. W.; WONG, T. S. Effects of lutein from marigold extract on immunity and growth of mammary tumors in mice. **Anticancer Res.**, v. 16, p. 3689-94, 1996.

_____.; WONG, T. S.; PARK, J. S. et al. A. The role of dietary lutein in the dog and cat. In: REINHART, G. A.; CAREY, D. P. (Eds). **Recent advances in canine and feline nutrition**. Wilmington: Orange Frazer Press, 1998. v. 2, p. 547-54.

_____.; PARK, J. S. Carotenoid action on the immune response. **J. Nutr.** v. 134, p. 257s-61s, 2004.

CHUANG, S. T. et al. The serum protein and its electrophoretic profile of young Formosan dogs. **J. Chin. Soc. Vet. Sci.**, v. 27, n. 4, p. 262-272, 2001. Disponível em: <<http://200.179.60.194/databases/login>>. Acesso em: 12 set. 2002.

CLINKENBEARD, K. D.; MEINKOTH, J. H. Normal hematology of the cat. In: FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. (Eds). **Schalm's veterinary hematology**. 5. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p. 1064-8.

COLLES, E. H. **Patologia clínica veterinária**. 3. ed. São Paulo: 1984. 566p.

COMPANHIA EQUIPADORA DE LABORATÓRIOS MODERNOS-CELM. **Guia de eletroforese em agarose geral**. Barueri, 1999.

COSTA, J. N. **Leucograma, metabolismo oxidativo dos neutrófilos, proteinograma e imunoglobulinas de bovinos da raça Holandesa (*Bos taurus*)**. 2000. 209p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.

COWELL, R. L.; DECKER, L. S. Interpretation of feline leukocyte responses. In: FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. (eds). **Schalm's veterinary hematology**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p. 382-90.

EIBERT, M., LEWIS, D. C. Evaluation of the feline erythron in health and disease. **Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.** v. 19, n. 3, p.57-40, 1997.

EVANS, R. J. Clinical pharmacology and therapeutics. In: CHANDLER, E. A.; GASKELL, C. J.; GASKELL, R. M. (Eds). **Feline medicine and therapeutics**. Oxford: Blackwell, 1994, p. 623-55.

FAGLIARI, J. J.; OLIVEIRA, E. C.; PEGORRER, M. F.; FERRENTE, JÚNIOR, L. C.; CAMPOS FILHO, E. Relação entre o nível sérico de gamaglobulinas e as atividades de gamaglutamiltransferase, fosfatase alcalina e aspartato aminotransferase de bezerros recém-nascidos. **Arq. Brás. Méd. Vet. Zootec.**, v. 48, p. 105-12, 1996.

FLAGG, E. W.; COATES, R. J.; GREENBERG, R. S. Epidemiologic studies of antioxidants and cancer in humans. **J Am Coll Nutr.**, v. 14, p. 419-27, 1995.

FURUKAWA, T.; SUGIYAMA, F. Analysis of feline plasma proteins by immunoelectrophoresis and polyacrylamide gel electrophoresis. **Nippon Juigaku Zasshi**, v, 48, n. 4, p. 643-53, 1986.

GARTNER, C.; STAHL, W.; SIES, H. Preferential increase in chylomicron levels of the xanthophylls lutein and zeaxanthin compared to beta-carotene in the human. **Int. J. Vitam. Nutr. Res.** , v. 66, p. 119-25, 1996.

HARPER, J. Feline immunocompetence, ageing and role of antioxidants. In: WSAVA CONGRESS, 2001, Vancouver. **Abstracts...**Vancouver, 2001. p. 63.

HARRIS, R. W. C.; KEY, T. J. A.; SILCOCKS, P. B.; BULL, D.; WALD, N. J. A case-control study of dietary carotene in man with lung cancer and in man with other epithelial cancers. **Nutr. Cancer**, v. 15, p. 63-8, 1991.

HENK, van den B. Carotenoid Interactions. **Nutr. Rev.** , v. 57. p. 1-10, 1999. Disponível em: < <http://gateway1.ovid.com/ovidweb.cgi> >. Acesso em: 7 out. 2002.

HIGH, E. G.; DAY, H. G. Effects of different amounts of lutein, squalene, phytol and related substances on the utilization of carotenoid and vitamin A for storage and growth in the rat. **J. Nutr.** v. 43, p. 245-60, 1951.

HOSKINS, J. D. Clinical evaluation of the kitten: from birth to eight weeks of age. **Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.** v. 12, n. 9, p. 1215-25, 1990.

_____. Hematology of normal dogs and cats and responses to disease. In: _____. **Veterinary pediatrics, dogs and cats from birth to six months.** Philadelphia: Saunders Company, 2001, p. 300-43.

JAIN, N. C. Erythrocyte physiology and changes in disease. In: **Essentials of veterinary hematology.** Philadelphia, Lea & Fabiger. 1993. 133-58.

_____. **Schalm's veterinary hematology.** 4. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1986. p. 1221.

JOHNSON, K. H.; PERMAN, V. Normal values for jugular blood in the cat. **Vet. Med. Small. Anim. Clin.** v. 6474, p. 851-4, 1968.

JYONOUCHI, H., SUN, S., GROSS, M. Effects of carotenoids on in vitro immunoglobulin production by human peripheral blood mononuclear cells: astaxanthin, a carotenoid without vitamin A activity, enhances *in vitro* immunoglobulin production in response to a T-dependent stimulant and antigen. **Nutr. Cancer**, v. 23, p. 171-83, 1995.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals.** 5. ed. San Diego: Academic Press, 1997. p. 157-203.

- KEAY, G. Serum protein values from clinically normal cats and dogs determined by agarose gel electrophoresis. **Res. Vet. Sci.** , v. 33, p. 343-6, 1982.
- KEMIN FOODS L. C. BIOLOTUS. Diferenças químicas entre FloraGLO luteína e extrato de flores *Tagetes erecta*. Rio de Janeiro, 1999. (**Literatura Técnica**)
- KIM, H. W.; CHEW, B. P.; WONG, T. S. et al. Dietary lutein stimulate response in the canine. **Vet. Immunol. Immunopathol.** , v. 74, p. 315-27, 2000a.
- _____. Modulation of humoral and cell-mediated immune responses by dietary lutein in cats. **Vet. Immunol. Immunopathol.** , v. 73, p. 331-41, 2000b.
- KLEIN, R. P. **Avaliação da imunidade celular sob a ação de imunomoduladores em neonatos caninos até 45 dias de idade**. Botucatu, 2004. 71p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.
- KRAFT, W.; HARTMANN, K.; DERESER, R. Dependancy on age of laboratory values in dogs and cats. Part 1: Activities in serum enzymes. **Tieäerztl. Prax.**, v. 23, p. 502-8, 1995.
- KRISTENSEN, F.; BARSANTI, J. A. Analysis of serum proteins in clinically normal pet and colony cats, using agarose electrophoresis. **Am. J. Vet. Res.** v. 38, n. 3, p. 399-402, 1977.

- LIM, J-S.; YANG, J-H.; CHUN, B-Y.; KAM, S.; JACOBS, D.R.; LEE, D-H.;
Is serum γ -glutamyltransferase inversely associated with serum anti-oxidants as a marker of oxidative stress? **Free Radical Biol. Med.**, v.17, n.7, p.1018-23, 2004.
- MÄHLER, M.; NEUMANN, St. Evaluation of some plasma enzymes in cats in the first six months of life. **Tierärztl Prax.** , v. 24, p. 406-10, 1996.
- MASSIMINO, S. P.; HAYEK, M. G.; CEDDIA, M. A. Dietary antioxidant supplementation improves immune cell activity and antibody production in the puppy. In: WSAVA CONGRESS, 2001, Vancouver. **Abstracts...**Vancouver, 2001, p. 63.
- MAUAK, A. G.; WHELAN, H. T.; PUTZ, G. R. Anemia in domestic cats: effect of hemoglobin components and whole blood oxygenation. **Science**, v. 185, p. 447-9, 1974.
- MAYNE, S. T. Beta-carotene, carotenoids and disease prevention in human. **Faseb J.**, v. 10, p. 690-701, 1996.
- McMICHAEL, M.; DHUPA, N. Pediatric critical care medicine: physiologic considerations. **Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.** v. 22, n. 3, p. 2000.
- MEYERS-WALLEN, V. N.; HASKINS, M. E.; PATTERSON, D. F. Hematologic values in healthy neonatal, weanling, and juvenile kittens. **Am. J. Vet. Res.**, v. 45, n. 7, p. 1322-7, 1984.

MINOVICH, F. G. Cuidados del gato neonato y emergências em neonatologia y pediatria. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE MEDICINA FELINA, 3, 2003, RIO DE JANEIRO. **Anais.** . . Rio de Janeiro: Núcleo de Ciência Veterinária, 2003. p. 1-25, 1CD-ROM.

MOON, P. F.; MASSAT, B. J.; PASCOE, P. J. Neonatal critical care. **Vet. Clin. North Am.**, v. 31, n. 2, p. 343-65, 2001.

MOORE, P. H. Cuidado y manejo del neonato. In: SIMPSON, G. M.; ENGLAND, G. C. W.; HARVEY, M. J. (eds). **Manual de reproducción y neonatología en pequeños animales.** Madrid: Harcourt, 2000. p. 211-4.

MURTAUGH, R. J. Pediatrics: the kitten from birth to eight weeks. In: SHERDING, R. G. (ed). **The cat diseases and clinical management.** New York: Churchill Livingstone, 1994. p. 1877-91.

NAKAI, N.; NAWA, K.; MAEKAWA, M.; NAGASAWA, H. Age-related changes in hematological and serum biochemical values in cats. **Exp. Anim.** v. 41, n. 3, p. 287-94, 1992.

PARK, J. S., CHEW, B. P., WONG, T. S. Dietary lutein from marigold extract inhibits mammary tumor development in balb mice. **J. Nutr.**, v. 128, p. 1650-6, 1998.

PARK, J. S.; CHEW, B. P.; WONG, T. S. et al. Dietary lutein uptake by blood and leucocytes in domestic cats. **Faseb J.** v. 13, p. a552, 1999.

PARKER, R. Absorption, metabolism, and transport of carotenoids. **Faseb J.**, v. 10, p. 542-51, 1996.

PASCOE, P. J.; MOON, P. F. Periparturient and neonatal anesthesia. **Vet. Clin. North. Am.**, v. 31, n. 2, p. 315-41, 2001.

PEARSON, E. G. Disease of the hepatobiliary system. In: SMITH, B. P. (Eds). **Large animal internal medicine**. St. Louis: Mosby, 1990. p. 837-43.

PETERSON, M. E.; KINTZER, P. P.; CAVANAGH, P. G. et al. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** v. 183, p. 103, 1983.

PETO, R.; DOLL, R.; BUCKLEY, J. D.; SPORN, M. B. Can dietary beta-carotene materially reduce human cancer rates? **Nature**, v. 290, p. 201-7, 1981.

POFFENBARGER, E. M.; OLSEN, P. N.; RALSTON, S. L.; CHANDLER, M. L. Canine neonatology. Part I. Disorders of the neonate. **Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.**, v. 13, n. 1, p. 25-37, 1990.

POPPEL, G. V.; GOLDBOHN, A. Epidemiological evidence for beta-carotene and cancer prevention. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 62, p. 1393S-02S, 1995.

ROCK, C. L.; SAXE, G. A.; RUFFIN, M. T.; AUGUST, D. A.; SCHOTTENFELS, D. Carotenoids, vit A and estrogen receptor status in breast cancer. **Nutr. Cancer**, v. 25, p. 281-96, 1996.

- SAS. USER'S GUIDE: *basic and statistic*. Cary: SAS, 1995. 1686 p.
- SELLON, R. K.; LEVY, J. K.; JORDAN, H. L.; GEBHARD, D. H.; TOMPKINS, M. B.; TOMPKINS, W. A. F. Changes in lymphocyte subsets with age in perinatal cats: late gestation through eight weeks. **Vet. Immunol. Immunopathol.**, v. 53, p. 105-13, 1996.
- SHIGENAGA, M. K.; HAGEN, T. M.; AMES, B. N. Oxidative damage and mitochondrial decay in aging. Apud CHEW, B. P., PARK, J. S. Carotenoid action on the immune response. **J. Nutr.** , v. 134, p. 257s-61s, 2004.
- SOUZA, H. J. M. Terapêutica felina: cuidado com o uso de drogas em gatos. In: ANDRADE, S. F. **Manual de terapêutica veterinária**. 2.ed. São Paulo, Roca, 2002. p. 557-68.
- STURGESS, K. Enfermedades infecciosas de cachorros jóvenes y gatitos. In: SIMPSON, G. M.; ENGLAND, G. C. W.; HARVEY, M. J. (Eds). **Manual de reproducción y neonatología en pequeños animales**. Madrid: Harcourt, 2000. p. 215-24.
- SUBAGIO, A.; MORITA, N. No effect of esterification with fatty acid on antioxidant activity of lutein. **Food Res. Int.** , v. 34. p. 315-20, 2001.
- TIEDEMANN, K. On the yolk sac of the cat. II. Erythropoietic phases, ultrastructure of aging primitive erythroblasts, and blood vessels. **Cell Tissue Res.**, v. 183, p. 71-89, 1977.

TIEDMANN, K.; van OYEN, B. Prenatal hematopoiesis and blood characteristics of the cat. **Anat. Embryol.**, v. 153, p. 243-67, 1978.

TIZARD, I. R. Imunidade no feto e no recém-nascido. In: TIZARD, I. R. **Imunologia veterinária, uma introdução**. 5. ed. Roca: São Paulo, 1998. p. 244-58.

TIZARD, I. R. Immunity in the fetus and newborn. In: TIZARD, I. R. **Veterinary immunology, an introduction**. 6. ed. Philadelphia: Saunders, 2000. p. 210-21.

WEISER, M. G.; KOCIBA, G. J. Sequential changes in erythrocyte volume distribution and microcytosis associated with iron deficiency kittens. **Vet. Pathol.**, v. 20, p. 1-12, 1983.

WINDLE, W. F.; SWEET, M.; WHITEHEAD, W. H. Some aspects of prenatal and postnatal development of the blood in the cat. **Anat. Rec.** v. 78, p. 322-332, 1940.

WOLFORD, S. T.; SCROER, R. A.; GOHS, F. X.; GALLO, P. P.; FALK, H. B.; DENTE, A. R. Effects of age on serum chemistry profile, electrophoresis and thyroid hormones in beagle dogs two weeks to one year of age. **Vet. Clin. Pathol.** V. 17, n. 2, p. 35-2, 1988.

YAMADA, T.; NAGAI, Y.; MATSUDA, M. Changes in serum immunoglobulin values in kittens after ingestion of colostrum. **Am. J. Vet. Res.** v. 52, n. 3, p. 393-6, 1991.

8. Anexos



ANEXO A – Hemograma dos neonatos GL (Grupo luteína) e GC (Grupo controle) no M1 (3 dias de idade)

Animais	Hem	Hgb	VG	VCM	CHCM	PTN	Leuc	Meta %	Meta	Bast %	Bast	Neutr %	Neutr	Linf %	Linf	Eos %	Eos	Baso %	Baso	Mono %	Mono
GL1	5390000	16,3	45	83,4	36,2	7,2	9871	0	0	0	0	31	3060	49	4836	13	1283	3	296	4	394
GL2	5530000	14,9	46	83,1	32,3	7,5	6961	0	0	2	139	46	3202	42	2923	9	626	0	0	1	69
GL3	5450000	16,4	46	84,4	35,6	9,0	5846	0	0	1	584	39	2279	40	2338	16	935	2	1168	2	1168
GL4	4460000	12,7	36	80,7	35,2	9,6	7623	0	0	0	0	25	1950	67	5107	6	457	2	152	0	0
GL5	4940000	12,9	38	76,9	33,9	5,1	8350	0	0	0	0	64	5344	33	2755	1	83	0	0	2	167
GL6	4270000	11,4	36	84,3	31,6	8,1	5880	0	0	0	0	35	2058	55	3234	7	411	3	176	0	0
GL7	4950000	13,3	37	74,7	35,9	9,1	5430	0	0	0	0	61	3312	27	1466	9	488	1	54	2	108
GL8	5340000	12,2	38	71,6	32,1	5,4	5460	0	0	1	54	45	2457	29	1583	22	1201	1	54	2	102
GL9	4800000	13,9	35	72,9	28,9	8,7	7584	0	0	0	0	50	3792	33	2502	14	1061	2	150	1	75
GL10	5750000	14,0	41	71,3	34,1	5,1	6372	0	0	0	0	55	3504	34	2166	8	509	3	191	0	0
GC1	4850000	14,4	42	86,5	34,2	8,5	6801	0	0	0	0	28	1940	53	3604	12	816	5	340	2	136
GC2	4960000	13,5	42	84,6	32,1	6,8	7264	0	0	0	0	44	3196	38	2760	14	1016	1	72	3	216
GC3	3880000	12,1	33	85,0	36,6	6,5	5128	0	0	0	0	32	1640	51	2615	11	564	1	51	5	256
GC4	4140000	10,9	33	79,7	33,0	5,7	11100	0	0	1	111	44	4884	51	5661	3	333	1	111	0	0
GC5	5040000	12,8	37	73,4	34,5	6,3	11683	0	0	0	0	41	4790	47	5491	8	934	1	116	3	348
GC6	5120000	12,5	38	74,2	32,8	6,8	7060	0	0	0	0	33	2329	61	4306	5	353	1	70	0	0
GC7	4130000	9,9	29	70,2	34,1	4,4	6990	0	0	0	0	25	1747	69	4823	3	2097	1	69	2	139
GC8	4460000	10,2	32	71,7	31,8	4,7	8850	0	0	2	177	52	4602	32	2832	10	885	3	265	1	88
GC9	3240000	9,52	27	83,3	35,2	7,6	5190	0	0	0	0	40	2076	38	1972	16	830	6	311	0	0
GC10	5530000	15,5	45	81,3	34,4	7,1	5351	0	0	0	0	57	3050	37	1979	5	267	0	0	1	53

ANEXO B – Hemograma dos neonatos GL (Grupo luteína) e GC (Grupo controle) no M2 (10 dias de idade)

Animais	Hem	Hgb	VG	VCM	CHCM	PTN	Leuc	Meta %	Meta	Bast %	Bast	Neutr %	Neutr	Linf %	Linf	Eos %	Eos	Baso %	Baso	Mono %	Mono
GL1	2910000	8,07	23	79,0	35,0	9,0	24326	1	243	6	1459	60	14595	27	6568	2	486	1	243	3	729
GL2	3490000	8,87	27	77,3	32,8	9,0	22549	1	225	11	2480	57	12852	26	5862	1	225	3	675	1	225
GL3	3250000	14,9	26	80,0	32,0	6,8	9278	0	0	3	278	49	4546	41	3803	5	463	1	927	1	927
GL4	3760000	9,11	27	71,8	33,7	7,5	10920	0	0	0	0	25	2730	70	7644	4	436	1	109	0	0
GL5	3830000	8,32	26	67,8	32,0	5,1	12200	0	0	0	0	38	4636	54	6588	3	366	5	610	0	0
GL6	3710000	8,25	26	70,0	31,7	6,6	8722	0	0	2	174	35	3052	52	4535	10	872	1	87	0	0
GL7	3320000	7,87	24	72,2	32,7	7,2	4823	0	0	1	48	36	1736	55	2652	3	144	3	144	2	96
GL8	3840000	7,97	26	67,7	30,6	7,2	5290	0	0	2	105	22	1163	61	3226	13	687	2	105	0	0
GL9	4910000	8,8	25	50,9	35,2	6,0	18400	0	0	0	0	59	10856	34	6256	5	920	1	184	1	184
GL10	4510000	8,9	26	57,6	33,8	8,4	8252	0	0	0	0	44	3630	45	3713	8	660	1	82	2	164
GC1	2910000	7,97	23	79,0	34,6	7,8	14774	0	0	1	147	56	8273	37	5466	3	443	1	147	2	294
GC2	3010000	9,7	25	83,0	38,8	6,4	22079	0	0	5	1103	63	13909	31	6844	1	220	0	0	0	0
GC3	2830000	9,5	22	77,7	43,1	7,2	10500	0	0	3	315	41	4305	48	5040	4	420	4	420	0	0
GC4	3530000	8,31	26	73,6	31,9	5,5	11553	0	0	0	0	40	4621	51	5892	6	693	1	115	2	230
GC5	3260000	7,19	21	64,4	34,2	4,6	11584	0	0	0	0	40	4633	45	5212	13	1505	0	0	2	230
GC6	3320000	7,76	24	72,2	32,3	5,4	6774	0	0	0	0	21	1422	69	4674	4	270	5	338	1	67
GC7	3190000	6,9	20	62,6	34,5	6,8	6816	0	0	3	204	28	1908	57	3885	9	613	1	68	2	136
GC8	3490000	7,36	24	68,7	30,6	6,5	10792	0	0	1	107	30	3237	56	6043	10	1079	0	0	3	323
GC9	2830000	7,25	23	81,2	31,5	6,8	5128	0	0	0	0	39	1999	44	2256	14	717	1	51	2	102
GC10	3140000	7,45	23	73,2	32,3	5,4	6676	0	0	0	0	53	3538	31	2069	10	667	0	0	6	400

ANEXO C – Hemograma dos neonatos GL (Grupo luteína) e GC (Grupo controle) no M3 (17 dias de idade)

Animais	Hem	Hgb	VG	VCM	CHCM	PTN	Leuc	Meta %	Meta	Bast %	Bast	Neutr %	Neutr	Linf%	Linf	Eos%	Eos	Baso%	Baso	Mono%	Mono
GL1	3060000	6,82	21	68,6	32,4	7,5	25415	0	0	3	762	67	17028	18	4574	10	2541	0	0	2	5083
GL2	3680000	7,55	23	62,5	32,8	6,0	10686	0	0	2	213	51	5449	22	2350	24	2564	0	0	1	106
GL3	2530000	13,9	20	79,0	33,5	7,8	13982	0	0	1	139	48	6711	29	4054	18	2516	2	278	2	278
GL4	3750000	7,16	23	61,3	31,3	7,5	10882	0	0	0	0	25	2720	54	5877	19	2067	2	217	0	0
GL5	4090000	7,19	23	56,2	31,2	7,5	12941	0	0	0	0	42	5435	36	4658	18	2329	3	388	1	129
GL6	3920000	8,18	27	68,8	30,2	7,5	8254	0	0	1	82	61	5034	28	2311	7	577	1	82	2	164
GL7	3590000	7,33	21	58,4	34,9	8,7	3250	0	0	0	0	40	1316	54	1776	4	131	2	65	0	0
GL8	3850000	5,61	19	49,3	29,5	6,3	19803	0	0	1	198	67	13268	23	4554	2	396	1	198	6	1188
GL9	4160000	7,72	23	55,2	33,5	8,4	5237	0	0	2	104	41	2147	36	1885	18	942	1	52	2	104
GL10	3690000	8,07	23	62,3	35,0	6,5	4990	0	0	0	0	34	1696	57	2844	6	299	3	149	0	0
GC1	3120000	7,40	20	64,1	37,0	8,9	33761	1	337	3	1012	62	20931	20	6752	14	4726	0	0	0	0
GC2	3570000	7,34	25	70,0	29,3	5,7	18595	0	0	2	370	52	9669	31	5764	14	2603	0	0	1	185
GC3	3000000	7,03	19	63,3	37,0	2,5	10597	1	105	12	1271	39	4132	36	3814	11	1165	0	0	1	105
GC4	4330000	6,99	22	50,8	31,7	6,5	10686	0	0	0	0	41	4381	47	5022	10	1068	0	0	2	213
GC5	3850000	6,54	21	54,5	31,1	5,7	13333	0	0	0	100	42	5599	34	4533	21	2799	2	266	1	133
GC6	3800000	7,84	25	65,7	31,3	5,3	6880	0	0	0	0	53	3646	36	2476	8	550	1	68	2	136
GC7	3830000	5,36	18	46,9	29,7	5,8	10800	0	0	0	0	57	6156	27	2916	13	1404	1	108	2	216
GC8	4330000	6,92	23	53,1	30,0	5,7	8891	0	0	0	0	36	3200	53	4712	9	800	0	0	2	177
GC9	3190000	8,54	19	59,5	44,9	7,5	4700	0	0	0	0	36	1692	39	1833	18	846	1	47	6	282
GC10	3900000	8,19	22	56,4	37,2	9,8	4349	0	0	0	0	14	608	77	3348	4	173	1	43	4	173

ANEXO D – Hemograma dos neonatos GL (Grupo luteína) e GC (Grupo controle) no M4 (24 dias de idade)

Animais	Hem	Hgb	VG	VCM	CHCM	PTN	Leuc	Meta %	Meta	Bast %	Bast	Neutr %	Neutr	Linf %	Linf	Eos %	Eos	Baso %	Baso	Mono %	Mono
GL1	3110000	8,71	18	57,8	48,3	7,8	25882	0	0	3	776	55	14235	28	7246	9	2329	1	258	4	1035
GL2	2560000	6,21	17	66,4	36,5	8,9	23100	0	0	3	693	71	16401	22	5082	2	462	1	231	1	231
GL3	2980000	9,66	18	60,4	53,6	9,9	30384	1	303	4	1215	62	18838	27	8203	3	911	0	0	3	911
GL4	4660000	7,46	24	51,5	31,0	9,3	12178	0	0	0	0	12	1461	76	9255	11	1339	1	121	0	0
GL5	4220000	5,58	19	45,0	29,3	9,0	10769	0	0	0	0	44	3446	44	4738	22	2369	1	107	1	107
GL6	4200000	7,97	28	66,6	28,4	8,7	9160	0	0	0	0	39	3572	50	450	9	824	0	0	2	183
GL7	3960000	7,93	22	55,5	36,0	7,7	7760	0	0	0	0	60	4733	36	2793	4	310	0	0	0	0
GL8	3220000	4,03	14	43,4	28,7	8,4	8240	0	0	3	247	53	4367	34	2801	6	494	1	82	3	247
GL9	4210000	6,26	20	61,7	31,3	7,6	9310	0	0	0	0	60	5586	27	2513	10	931	2	186	1	93
GL10	4390000	7,77	23	52,3	33,7	9,3	6790	0	0	0	0	38	2580	47	3191	12	814	0	0	3	203
GC1	3160000	7,79	18	56,9	43,2	8,5	25922	0	0	0	0	60	15553	28	7258	9	2332	0	0	3	777
GC2	3420000	9,12	21	61,4	43,4	7,6	14600	0	0	3	438	39	5694	39	7884	3	438	0	0	1	146
GC3	2940000	7,56	16	54,4	47,2	8,8	12941	0	0	2	258	33	4270	57	7376	6	776	1	129	1	129
GC4	4700000	6,03	21	44,6	28,7	5,2	9470	0	0	0	0	46	4356	13	2588	13	1231	0	0	1	94
GC5	4120000	5,77	19	46,1	30,3	5,1	10099	0	0	1	0	42	4241	38	3837	18	1817	1	100	0	0
GC6	4260000	7,73	24	56,3	32,2	5,7	8340	0	0	0	0	43	3586	44	3669	11	917	0	0	2	166
GC7	3520000	4,62	16	45,4	28,8	7,1	22178	0	0	1	221	63	13972	29	6431	1	221	0	0	6	1330
GC8	3370000	4,73	16	47,4	29,5	6,4	10873	0	0	0	0	45	4892	39	4240	15	1630	0	0	1	108
GC9	3650000	8,21	17	46,5	48,2	9,2	5178	0	0	0	0	45	2330	35	1812	17	880	1	51	2	103
GC10	3990000	6,39	22	55,1	29,0	6,2	5950	0	0	1	59	66	3927	27	1606	3	178	1	59	2	119

ANEXO E – Hemograma dos neonatos GL (Grupo luteína) e GC (Grupo controle) no M5 (31 dias de idade).

Animais	Hem	Hgb	VG	VCM	CHCM	PTN	Leuc	Meta %	Meta	Bast %	Bast	Neutr %	Neutr	Linf %	Linf	Eos %	Eos	Baso %	Baso	Mono %	Mono
GL1	3270000	5,76	18	55,0	32,0	7,6	36200	2	724	6	2172	70	25340	15	5430	15	1448	2	724	1	362
GL2	3360000	5,31	17	50,5	31,2	7,9	34752	1	347	3	1042	65	22588	22	7645	5	1737	3	1042	1	347
GL3	3160000	9,48	18	56,9	52,6	7,7	28811	4	1152	17	4897	51	14693	22	4995	5	1440	1	288	0	0
GL4	4560000	7,13	24	52,6	29,7	9,0	8270	0	0	0	0	40	3308	44	3638	14	1157	1	82	1	82
GL5	5120000	7,04	23	44,9	30,6	9,6	10800	0	0	0	0	34	3672	53	5724	10	1080	2	216	1	108
GL6	5040000	9,17	31	61,5	29,5	9,3	6860	0	0	0	0	65	4459	32	2195	2	137	1	68	0	0
GL7	4480000	6,56	18	40,1	36,4	8,7	10700	0	0	2	214	57	6099	28	2996	8	856	3	321	2	214
GL8	3590000	4,21	16	44,5	26,3	8,3	10980	0	0	5	549	59	6478	29	3184	5	549	0	0	2	219
GL9	4480000	6,56	18	40,1	36,4	7,9	10700	0	0	0	0	54	5778	31	1070	10	1070	3	321	2	214
GL10	4640000	6,85	23	49,5	29,9	9,0	16100	0	0	0	0	65	10465	27	4347	4	644	1	161	3	483
GC1	3540000	8,12	17	48,0	47,7	8,5	23592	1	235	3	707	62	14627	22	5190	9	2123	1	235	2	470
GC2	370000	5,7	17	45,9	33,5	7,5	16700	0	0	1	167	61	10187	23	3841	9	1503	4	668	2	334
GC3	3370000	5,71	18	53,4	31,7	9,6	27200	0	0	8	2176	65	1768	22	5984	4	1088	1	272	0	0
GC4	5640000	8,7	31	54,9	28,0	5,7	10400	0	0	0	0	49	5096	38	3952	10	1040	1	104	2	208
GC5	5160000	7,08	23	44,5	30,7	5,4	8460	0	0	0	0	83	7021	24	2030	12	1115	1	84	0	0
GC6	4210000	7,38	25	59,3	29,5	5,5	6549	0	0	0	0	71	4649	20	1309	8	523	0	0	1	65
GC7	4210000	5,6	18	42,7	31,1	9,3	13009	0	0	1	130	71	9236	17	2211	8	1040	1	130	2	260
GC8	4150000	5,79	21	50,6	27,5	5,7	19702	0	0	1	197	62	12216	29	5713	3	591	0	0	5	985
GC9	4230000	8,42	18	42,5	46,7	8,1	11000	0	0	1	110	69	7590	15	1650	8	880	3	330	4	440
GC10	4380000	5,92	20	45,6	29,7	5,4	10400	0	0	1	104	39	4056	50	5200	7	728	1	0	3	312

ANEXO F – Hemograma dos neonatos GL (Grupo luteína) e GC (Grupo controle) no M6 (38 dias de idade).

Animais	Hem	Hgb	VG	VCM	CHCM	PTN	Leuc	Meta	Meta %	Bast	Bast %	Neutr	Neutr %	Linf	Linf %	Eos	Eos %	Baso	Baso %	Mono	Mono %
GL1	4160000	6,28	23	55,2	27,3	7,8	31188	0	0	1	31,1	67	20895	20	6237	5	1559	0	0	7	2183
GL2	4490000	10,9	24	53,4	45,4	8,3	32549	1	325	8	2603	67	21807	15	4882	7	2278	0	0	2	650
GL3	3980000	6,23	21	52,7	29,6	6,9	17400	1	174	6	1044	62	10788	18	3132	9	1566	0	0	4	696
GL4	5760000	8,91	29	50,3	30,7	9,3	7770	0	0	0	0	30	2331	59	4584	5	388	4	310	2	155
GL5	5350000	7,64	25	46,7	30,5	6,9	10400	0	0	1	104	41	4264	39	4056	15	1560	3	312	1	104
GL6	5010000	8,9	30	59,8	29,6	7,2	7770	0	0	0	0	46	3574	46	3574	6	466	1	77	1	77
GL7	4590000	7,44	25	54,4	29,7	7,0	16800	0	0	0	0	77	12936	16	2688	3	504	1	168	3	504
GL8	4840000	5,12	18	37,1	28,4	9,8	14059	0	0	1	140	73	10263	17	2390	5	702	0	0	4	562
GL9	5450000	7,75	26	47,7	29,8	9,0	14500	0	0	0	0	57	8265	25	2320	16	145	1	145	1	145
GL10	4980000	7,84	27	54,2	29,0	7,2	18400	0	0	0	0	50	9200	40	7360	8	1472	2	368	0	0
GC1	4440000	7,21	26	58,5	27,7	6,7	26568	0	0	4	1062	47	12486	30	7970	15	3985	1	265	3	795
GC2	4570000	7,05	25	54,7	28,2	5,4	14509	0	0	0	0	48	6964	29	4207	15	2176	2	290	6	870
GC3	3800000	7,12	21	55,2	33,9	8,8	25200	2	504	10	2520	50	12600	24	6048	9	2268	1	252	4	1008
GC4	4490000	8,16	26	57,9	31,3	5,1	7140	0	0	0	0	37	2641	50	3570	5	357	3	214	5	357
GC5	5760000	7,48	25	43,4	29,9	5,2	10900	0	0	0	0	48	5232	36	3924	12	1308	3	327	1	109
GC6	4030000	7,18	24	59,5	29,9	5,5	5750	0	0	0	0	52	2990	36	2070	5	287	1	57	6	345
GC7	5820000	7,28	25	42,9	29,1	8,5	19504	0	0	2	390	59	11507	22	4290	8	1560	0	0	9	1755
GC8	5830000	8,01	29	49,7	27,6	7,2	14059	0	0	1	0	49	4920	35	4920	9	1265	1	140	5	702
GC9	4290000	5,85	20	46,6	29,2	9,4	15400	0	0	0	0	77	11858	10	1540	9	154	1	154	3	462
GC10	4720000	7,7	27	57,2	28,5	6,6	8330	0	0	0	0	54	4498	25	2082	21	1749	0	0	0	0

ANEXO G – Alanina aminotransferase (ALT), Gama glutamil transferase (GGT), glicemia, concentração de proteínas séricas(PTN), albumina, frações α , β e γ -globulina das proteínas séricas dos neonatos GL (Grupo luteína) e GC (Grupo controle) no M1 (03 dias de idade).

Animais	ALT	GGT	Glicemia	PTN	Albumina %	Albumina	Alfa-glob %	Alfa-glob	Beta-glob%	Beta-glob	Gama-glob%	Gama-Glob
GL1	36	0	126	5,2	52,1	2,7	20,0	1,0	15,7	0,8	12,2	0,6
GL2	28	2,1	94	4,4	51,2	2,2	24,9	1,1	13,6	0,6	10,3	0,4
GL3	33	0,3	101	6,4	48,2	3,1	22,6	1,5	15,3	0,9	13,9	0,9
GL4	27	0	97	4,5	46,9	2,1	24,8	1,2	15,6	0,7	12,7	0,6
GL5	28	0	114	4,4	46,6	2,0	24,5	1,1	13,5	0,6	15,4	0,7
GL6	40	1,8	185	4,6	42,9	2,0	19,6	1,0	13,7	0,6	23,8	1,1
GL7	29	0	140	4,8	53,5	2,6	24,0	1,1	17,0	0,8	5,5	0,3
GL8	33	0,6	122	4,6	43,5	2,0	21,4	0,9	13,6	0,6	21,5	1,0
GL9	61	0	163	5,8	52,5	3,0	22,1	1,2	16,9	0,9	8,5	0,5
GL10	59	0	121	4,8	53,2	2,5	22,3	1,1	13,8	0,6	10,7	0,5
GC1	15	0,3	137	5,2	51,7	2,7	24,2	1,2	10,3	0,6	13,8	0,7
GC2	23	0,9	103	4,4	50,7	2,2	21,4	0,8	14,6	0,6	13,3	0,6
GC3	18	0,4	102	4,6	49,0	2,2	29,4	1,3	14,6	0,7	7,0	0,3
GC4	22	0,9	159	4,6	45,7	2,1	15,6	0,7	18,4	0,8	20,3	0,9
GC5	34	0	141	4,4	42,0	1,8	21,3	0,9	16,9	0,8	19,8	0,9
GC6	21	0,6	149	5,8	48,3	2,8	19,5	1,1	13,5	0,8	18,7	1,1
GC7	26	0	164	4,6	49,6	2,3	21,9	1,0	16,2	0,7	12,3	0,6
GC8	18	0,6	104	4,4	49,8	2,2	17,1	0,8	18,1	0,8	15,0	0,7
GC9	18	0,7	173	4,8	43,8	2,1	16,0	0,7	22,8	1,0	17,4	0,8
GC10	34	1,9	146	5,2	49,7	2,6	21,2	1,0	17,1	0,9	12,0	0,6

ANEXO H – Alanina aminotransferase (ALT), Gama glutamil transferase (GGT), glicemia, concentração de proteínas séricas(PTN), albumina, frações α , β e γ -globulina das proteínas séricas dos neonatos GL (Grupo luteína) e GC (Grupo controle) no M2 (10 dias de idade).

Animais	ALT	GGT	Glicemia	PTN	Albumina %	Albumina	Alfa-glob %	Alfa-glob	Beta-glob%	Beta-glob	Gama-glob%	Gama-Glob
GL1	28	6,3	118	5,6	43,7	2,4	31,3	1,7	16,9	0,9	8,1	0,5
GL2	19	2,4	122	4,6	46,7	2,1	30,6	1,4	15,5	0,7	7,2	0,4
GL3	20	3,9	107	6,8	43,3	2,9	29,2	2,0	17,9	1,2	9,6	0,7
GL4	23	1,5	145	4,6	53,4	2,5	24,4	1,1	13,7	0,6	8,5	0,4
GL5	22	0,3	117	4,6	46,7	2,1	26,5	1,2	15,1	0,6	11,7	0,5
GL6	24	1,2	104	4,6	49,2	2,3	22,4	1,1	16,1	0,7	12,3	0,6
GL7	20	0,6	151	4,6	45,7	2,1	31,3	1,4	18,5	0,8	4,5	0,2
GL8	21	2,1	163	5,0	45,2	2,3	26,6	1,3	16,4	0,8	11,8	0,6
GL9	48	0	146	4,6	40,5	1,9	36,3	1,6	16,6	0,8	6,6	0,3
GL10	30	0,3	110	4,0	47,9	1,9	27,8	1,2	16,2	0,6	8,1	0,3
GC1	15	4,5	131	6,0	28,2	1,7	38,5	2,2	20,7	1,2	12,6	0,7
GC2	17	0,3	125	6,0	37,4	2,2	35,5	2,1	17,6	1,0	9,5	0,5
GC3	13	2,4	102	6,8	34,2	2,3	38,7	2,5	19,1	1,3	8,0	0,6
GC4	22	0	150	5,2	43,6	2,3	27,7	1,5	15,3	0,8	13,4	0,7
GC5	21	3,3	127	4,0	44,2	1,7	28,1	1,1	17,9	0,7	9,8	0,4
GC6	24	2,1	127	4,4	45,6	2,0	24,2	1,0	17,7	0,7	12,5	0,5
GC7	18	0,3	149	5,0	45,0	2,2	24,1	1,2	22,0	1,1	8,9	0,4
GC8	22	0,9	119	4,6	42,8	2,0	29,1	1,4	18,1	0,9	10,0	0,5
GC9	23	1,8	127	4,8	47,0	2,3	25,8	1,3	15,5	0,7	11,7	0,6
GC10	19	0	131	4,1	43,4	1,8	30,6	1,2	17,6	0,7	8,4	0,3

ANEXO I – Alanina aminotransferase (ALT), Gama glutamil transferase (GGT), glicemia, concentração de proteínas séricas(PTN), albumina, frações α , β e γ -globulina das proteínas séricas dos neonatos GL (Grupo luteína) e GC (Grupo controle) no M3 (17 dias de idade).

Animais	ALT	GGT	Glicemia	PTN	Albumina %	Albumina	Alfa-glob %	Alfa-glob	Beta-glob%	Beta-glob	Gama-glob%	Gama-Glob
GL1	27	3,0	124	5,4	45,3	2,4	31,4	1,7	16,8	0,9	6,5	0,3
GL2	17	0,3	121	5,0	47,5	2,4	28,6	1,5	18,1	1,1	5,8	0,3
GL3	21	2,1	126	8,0	40,9	2,4	32,4	1,9	18,2	1,1	8,5	0,5
GL4	20	3,6	116	4,4	56,0	2,5	24,0	1,0	13,6	0,6	6,4	0,3
GL5	25	2,1	112	4,4	53,1	2,3	24,1	0,9	14,2	0,6	8,6	0,4
GL6	18	1,8	114	4,7	54,2	2,5	21,5	0,9	15,6	0,7	8,7	0,4
GL7	18	1,2	122	5,0	48,5	2,4	28,6	1,4	18,8	0,9	4,1	0,2
GL8	44	0	169	6,0	43,0	2,6	29,8	1,8	18,9	1,2	8,3	0,5
GL9	27	3,0	111	5,0	49,0	2,4	28,4	1,4	18,5	0,9	4,1	0,2
GL10	30	1,8	110	4,8	48,2	2,3	27,5	1,2	17,9	0,8	6,4	0,3
GC1	14	4,8	105	7,6	17,1	1,3	53,7	4,1	21,9	1,6	7,3	0,5
GC2	18	1,5	133	4,8	24,7	1,2	49,7	2,4	20,1	1,0	5,5	0,3
GC3	13	5,1	133	6,0	22,1	1,3	53,0	3,1	21,5	1,3	3,4	0,2
GC4	21	2,1	125	4,8	31,6	1,5	35,3	1,6	21,2	1,0	11,9	0,6
GC5	22	1,5	115	4,4	37,4	1,6	33,8	1,5	18,6	0,8	10,2	0,4
GC6	18	3,0	117	4,8	32,9	1,6	33,7	1,5	19,5	0,9	13,9	0,7
GC7	18	2,4	135	5,2	33,3	1,7	37,9	1,8	22,7	1,1	6,1	0,3
GC8	18	1,2	154	4,8	36,5	1,7	39,7	1,9	20,0	0,9	3,8	0,2
GC9	20	2,4	120	6,0	41,4	2,5	32,8	1,9	17,6	1,1	8,2	0,5
GC10	16	0,9	129	4,8	49,9	2,4	26,9	1,3	18,6	0,9	4,6	0,2

ANEXO J – Alanina aminotransferase (ALT), Gama glutamil transferase (GGT), glicemia, concentração de proteínas séricas (PTN), albumina, frações α , β e γ -globulina das proteínas séricas dos neonatos GL (Grupo luteína) e GC (Grupo controle) no M4 (24 dias de idade).

Animals	ALT	GGT	Glicemia	PTN	Albumina %	Albumina Alfa-glob	Alfa-glob %	Beta-glob%	Beta-glob	Gama-glob%	Gama-Glob	
GL1	30	8,1	107	6,8	41,0	2,8	2,3	33,5	18,8	1,3	6,7	0,4
GL2	18	7,2	121	6,2	44,8	2,8	1,9	31,0	17,7	1,1	6,5	0,4
GL3	22	9,3	114	8,2	38,9	3,2	2,9	34,7	17,7	1,4	8,7	0,7
GL4	23	0	180	4,6	55,6	2,6	0,8	19,4	19,1	0,9	5,9	0,2
GL5	24	0	120	4,6	54,4	2,5	1,0	23,5	15,6	0,7	6,5	0,2
GL6	18	0	127	5,0	57,5	2,9	1,1	21,5	14,6	0,8	6,4	0,3
GL7	19	0,9	135	6,0	46,1	2,8	1,8	30,0	18,3	1,1	5,6	0,4
GL8	19	2,7	133	5,2	45,1	2,3	1,5	29,0	18,3	1,0	7,6	0,3
GL9	23	4,5	123	5,4	47,9	2,6	1,5	28,2	18,6	1,0	5,3	0,3
GL10	23	0	127	5,2	45,7	2,4	1,5	29,9	17,6	0,9	6,8	0,4
GC1	18	3,5	143	6,8	46,6	3,2	2,4	36,1	15,4	0,9	2,9	0,2
GC2	18	5,2	127	7,4	45,7	3,4	2,3	31,4	17,9	1,2	5,6	0,4
GC3	13	0	122	7,0	41,2	2,9	2,3	33,0	15,5	1,1	10,3	0,7
GC4	36	1,0	142	5,0	53,3	2,7	1,4	28,2	12,6	0,6	5,9	0,3
GC5	24	0,7	121	4,6	57,8	2,7	0,8	18,9	17,8	0,8	5,5	0,3
GC6	25	0,8	125	5,0	53,6	2,7	1,1	23,2	17,6	0,8	5,6	0,3
GC7	20	1,7	136	5,5	49,1	2,7	1,7	30,3	18,8	1,1	1,8	0,1
GC8	23	2,2	133	5,2	50,2	2,6	1,5	29,2	18,3	0,9	2,3	0,1
GC9	37	0	111	7,4	50,4	3,7	2,2	29,8	15,7	1,2	4,1	0,3
GC10	19	0,4	113	5,0	50,8	2,5	1,5	30,0	14,7	0,8	4,5	0,2

ANEXO K– Alanina aminotransferase (ALT), Gama glutamil transferase (GGT), glicemia, concentração de proteínas séricas (PTN), albumina, frações α , β e γ -globulina das proteínas séricas dos neonatos GL (Grupo luteína) e GC (Grupo controle) no M5 (31 dias de idade).

Animais	ALT	GGT	Glicemia	PTN	Albumina %	Albumina	Alfa-glob %	Alfa-glob	Beta-glob	Beta-glob%	Gama-glob%	Gama-Glob
GL1	29	7,2	104	6,4	40,3	2,6	33,2	2,2	1,2	18,3	8,2	0,6
GL2	19	8,1	111	6,6	44,2	2,9	29,1	1,9	1,2	17,9	8,8	0,6
GL3	18	8,4	117	8,2	41,9	3,4	29,4	2,4	1,4	17,8	10,9	0,9
GL4	29	2,7	137	4,6	57,8	2,7	23,3	1,1	0,6	14,1	4,8	0,2
GL5	29	2,1	163	5,2	56,0	2,9	22,5	1,1	0,8	15,6	5,9	0,3
GL6	23	1,2	154	5,3	60,7	3,2	19,9	1,0	0,7	13,5	5,9	0,3
GL7	17	0	124	5,6	49,2	2,7	26,9	1,5	0,9	16,9	7,0	0,4
GL8	27	2,7	126	5,4	49,1	2,6	26,9	1,4	0,9	16,2	7,8	0,4
GL9	26	0	117	5,6	49,8	2,8	27,2	1,5	1,0	17,9	5,1	0,2
GL10	28	2,1	117	5,4	48,1	2,6	27,3	1,5	0,9	16,6	8,0	0,5
GC1	24	2,1	105	8,2	43,2	3,5	34,0	2,8	1,4	18,1	4,7	0,4
GC2	25	4,6	110	6,0	48,7	2,9	26,1	1,6	1,0	17,8	7,4	0,4
GC3	22	4,3	120	6,8	44,2	3,0	28,1	1,9	1,2	17,9	9,8	0,7
GC4	30	0	122	5,1	55,7	2,8	24,7	1,2	0,6	13,0	6,6	0,3
GC5	29	0,9	150	4,8	57,0	2,7	25,0	1,4	0,5	11,3	6,7	0,4
GC6	30	1,3	126	5,0	54,7	2,7	27,6	1,4	0,6	12,9	4,8	0,2
GC7	33	1,4	134	6,0	46,3	2,8	32,0	1,8	1,1	18,3	3,4	0,2
GC8	21	1,8	134	5,0	44,9	2,2	33,2	1,6	0,8	15,0	6,9	0,3
GC9	19	0	115	7,2	42,9	3,1	37,9	1,8	1,1	16,2	3,1	0,2
GC10	21	1,8	133	5,4	48,3	2,6	31,2	1,6	0,9	16,9	3,6	0,2

ANEXO L– Alanina aminotransferase (ALT), Gama glutamil transferase (GGT), glicemia, concentração de proteínas séricas(PTN), albumina, frações α , β e γ -globulina das proteínas séricas dos neonatos GL (Grupo luteína) e GC (Grupo controle) no M6 (38 dias de idade).

Animais	ALT	GGT	Glicemia	PTN	Albumina %	Albumina	Alfa-glob %	Beta-glob	Beta-glob%	Beta-glob	Gama-glob%	Gama-Glob
GL1	20	3,3	104	5,4	39,9	2,1	34,2	1,8	14,4	0,7	11,5	0,6
GL2	20	2,7	111	8,4	36,0	3,0	32,8	2,8	18,1	1,5	13,1	1,1
GL3	20	4,8	117	5,6	40,6	2,3	28,9	1,6	16,0	0,9	14,5	0,8
GL4	34	0	137	5,4	53,7	2,9	28,0	1,6	12,2	0,6	6,1	0,3
GL5	44	0	163	5,0	54,7	2,7	23,6	1,2	14,5	0,7	7,2	0,4
GL6	28	1,8	154	5,2	55,8	2,9	23,2	1,1	15,1	0,8	5,9	0,3
GL7	18	0,9	124	6,4	43,2	2,8	27,9	1,8	15,7	1,0	13,2	0,8
GL8	30	2,9	126	6,0	42,9	2,6	28,4	1,7	16,2	1,0	12,5	0,8
GL9	50	0	117	5,9	45,7	2,7	31,0	1,7	15,1	0,9	8,2	0,5
GL10	38	0	117	5,5	40,1	2,2	29,1	1,7	13,9	0,7	16,9	0,9
GC1	22	2,9	105	5,8	36,6	2,1	11,3	0,6	38,1	2,2	14,0	0,8
GC2	22	1,4	110	5,1	48,5	2,5	27,8	1,4	13,0	0,7	10,7	0,6
GC3	20	2,9	120	7,4	36,2	2,7	29,3	2,2	13,4	1,0	20,7	1,5
GC4	37	1,4	122	5,6	51,9	2,9	27,0	1,5	12,3	0,6	8,8	0,5
GC5	38	0,8	150	5,2	52,2	2,7	26,2	1,4	12,5	0,7	9,1	0,5
GC6	37	0	126	5,4	50,2	2,7	28,4	1,5	13,7	0,7	7,7	0,4
GC7	22	3,4	134	6,4	39,1	2,5	33,3	2,1	12,6	0,9	15,0	0,8
GC8	23	1,3	134	6,3	41,7	2,6	30,7	1,9	11,3	1,0	16,3	0,7
GC9	47	0	115	7,9	33,6	2,6	38,9	3,0	14,6	1,2	12,9	1,0
GC10	23	0	133	5,8	45,1	2,6	31,5	1,7	16,2	0,9	7,2	0,4

ANEXO M– Peso em gramas dos neonatos GL (Grupo luteína) e GC (Grupo controle).

Animais	M1	M2	M3	M4	M5	M6
GL1	80	130	210	240	260	380
GL2	80	180	210	290	340	380
GL3	80	120	190	240	320	390
GL4	160	250	300	400	440	470
GL5	140	220	320	440	460	600
GL6	140	240	380	500	530	600
GL7	120	180	280	360	400	450
GL8	120	240	330	400	450	470
GL9	130	180	280	340	400	460
GL10	120	180	240	300	330	400
GC1	100	140	190	260	300	410
GC2	80	190	210	270	360	460
GC3	90	150	200	260	300	320
GC4	140	220	310	360	440	460
GC5	140	210	330	400	470	470
GC6	120	200	300	400	450	520
GC7	140	250	350	400	420	470
GC8	120	280	390	450	520	540
GC9	100	180	200	240	300	340
GC10	100	160	230	300	370	450