

**RAQUEL REIS MARTINS**

**HEMOGRAMA, PROTEINOGRAMA E ENZIMA GAMA-  
GLUTAMILTRANSFERASE EM CÃES NEONATOS, DO 3º AO  
45º DIA DE VIDA, SOB A AÇÃO DA IDADE E DA  
SUPLEMENTAÇÃO COM LUTEÍNA**

**Botucatu  
2005**

**RAQUEL REIS MARTINS**

**HEMOGRAMA, PROTEINOGRAMA E ENZIMA GAMA-  
GLUTAMILTRANSFERASE EM CÃES NEONATOS, DO 3º AO  
45º DIA DE VIDA, SOB A AÇÃO DA IDADE E DA  
SUPLEMENTAÇÃO COM LUTEÍNA**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária, área de conhecimento: Patologia Clínica.

**Orientador: Prof. Dr. Raimundo Souza Lopes**

**Botucatu  
2005**

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

Martins, Raquel Reis.

Avaliação do hemograma, proteinograma e da enzima gama-glutamil transferase de cães neonatos, do 3º aos 45 dias de vida, sob ação da idade e da suplementação com luteína / Raquel Reis Martins. – 2005.

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

Orientador: Raimundo Souza Lopes

Assunto CAPES: 50501062

1. Hematologia veterinária

CDD 636.089615

Palavras-chave: Cães; Hemograma; Neonatos; Proteinograma; Luteína

## *DEDICATÓRIA*

### *DEUS*

Desde que cheguei aqui, o senhor iluminou o meu caminho e esteve comigo.

Foi uma difícil caminhada, pensei várias vezes em desistir, mas, apesar de todas as barreiras, fez-me crescer e ajudou-me a prosseguir.

Hoje, devo esta vitória a ti e tenho a certeza de que, sem tua presença, teria sido impossível continuar e chegar onde cheguei.

Meu Pai, meu muito obrigada!

### *Aos meus pais*

Impossível dizer o quanto lhes sou grata. Exemplos de amor, carinho, dedicação e honestidade. Hoje, estou feliz, por oferecer-lhes este título.

Ao meu pai, que ao lado de Deus, continua olhando por mim, pois sua constante presença em meu coração me incentiva a sempre persistir.

À minha mãe, que abdicou de seus sonhos para vivenciar os meus. Além de todo suporte afetivo, emocional e financeiro, sua ajuda foi fundamental, ao cuidar da Maria Laura, para que este projeto se tornasse realidade. Seu imenso amor me tranquilizava todas as vezes que deixava a minha filha.

Neste momento, agradeço, novamente, a Deus, por ter-me dado pais tão maravilhosos e de quem me orgulho tanto!

## *Daniel e Maria Laura*

Quando saímos em busca de nossos ideais, muitas vezes nos colocamos em locais inacessíveis, mas o amor ameniza o tempo e nos impulsiona para a vitória.

Ao meu companheiro, por todo o amor, carinho, incentivo e compreensão em todos esses anos.

À minha filha, Maria Laura, que, desde muito cedo, teve que abdicar de minha presença e de meus cuidados, mas que, em todos os momentos, foi a maior razão da minha busca pelos meus ideais.

Estou certa de que, um dia, você entenderá a necessidade dessa dolorosa separação.

## *À toda a minha família*

Que me deu grande incentivo em todos os momentos, bons e ruins.

## **AGRADECIMENTOS**

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Unesp de Botucatu, pela oportunidade de realização do mestrado.

Ao professor Raimundo Souza Lopes, pela disposição em aceitar-me como orientanda e por toda a confiança em mim depositada.

À professora Regina Kiomi Takahira, para mim, uma amiga que, desde os tempos de estágio, muito me ajudou. Muito obrigada, por todos os ensinamentos que me passou constantemente, com tanta boa vontade e alegria.

Ao professor Reinaldo José da Silva, que me abriu as portas do Instituto de Biociências - IB por tantas oportunidades que tive de participar de seus projetos de pesquisa. Obrigada pelo auxílio e confiança.

À professora Lúcia Helena, pela atenção e por todas as dicas que me foram dadas.

À professora Helena Ferreira, pelas correções e sugestões desde a fase da realização do projeto.

À querida Roseli Pizzigatti Klein, pela oportunidade de participar de seu projeto e, também, pela inestimável colaboração, para que meu mestrado se tornasse realidade.

À amiga Andressa Inaba de Magalhães (Pepéia), pela maravilhosa convivência antes, durante e após morarmos juntas. Agradeço a Deus, por haver colocado em meu caminho uma pessoa tão especial como você.

À Paula Facciulli, que participou, muito, de minha vida durante minha estada em Botucatu. Grande companheira, com quem pude contar nos momentos bons e ruins, sempre divertida e disposta a ajudar-me.

À Regina Raquel Perez obrigada por todo o carinho e cuidados com as minhas “crianças”, Eugênia e Lilica, durante o período em que moramos juntas.

À Graziela Barioni, que, desde o início, me deu grande incentivo e ajuda. Mesmo estando longe, nunca me esqueci de seus conselhos.

À Inês Cristina Giometti, por haver, com sua tão agradável companhia, amenizado as nossas longas viagens para casa.

Ao André Trombeta, meu muito obrigada, por se mostrar sempre e em qualquer ocasião, pronto, para me ajudar.

Às duas queridas amigas, Ana Maria Silveira Siqueira Wehbi e Milena Palmeira dos Reis Caldeira Brant, pessoas que sempre torceram por mim e principalmente as grandes incentivadoras que me ensinaram a amar a Patologia Clínica Veterinária.

Ao Joandes Henrique Fonteque, pela realização da análise estatística deste trabalho.

À querida Adriane Jorge Mendonça, que, de modo especial, me ensinou ser possível conciliar trabalho e família.

À Veridiana Fernandes da Silveira, que colaborou muito e sempre, para que esta pesquisa se concretizasse, além de todo o carinho.

À Flávia Quaresma, Luciana Pereira Machado, Mere Érica Saito, Sandra Bassani Silva, Ana Elisa Arruda Rocha, Daniela Campagnol, Fabiano Braz (Lambi), Marcelo Costa (Budum), queridos amigos, que fiz durante essa longa caminhada e não me esquecerei nunca, meu muito obrigada, por todo o apoio. Estou certa de que, sem vocês, a minha caminhada seria mais difícil.

À Maria Lúcia Gomes Lourenço (Malú), uma profissional exemplar e ótima amiga, um espelho para mim.

Aos funcionários Soninha e Fogaça, que, infelizmente, não estão mais entre nós, mas que foram muito importantes e jamais serão esquecidos por mim.



## *Agradecimentos*

---

À Sônia (Parasitárias), por todos os ótimos momentos, quando estivemos juntas durante e após meu longo período de estágio.

Aos funcionários Suely, Ilson, Ana, Cristininha, Negui e Claudinho pelas tardes de descontração em que demos boas risadas e que, com certeza, amenizaram o trabalho árduo.

À Roseli Costa da Silva, nossa secretária e amiga há mais de dez anos e que, na minha ausência, junto com a minha mãe, cuidou, com amor e carinho, da minha filhinha.

Meu muito obrigada a todos os que, de alguma maneira, me auxiliaram na elaboração desta dissertação.

MARTINS, R.R. **Hemograma, proteinograma e enzima gama glutamiltransferase em cães neonatos, do 3º ao 45º dia de vida, sob a ação da idade e da suplementação com luteína.** 2005. 71p. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária (área de Clínica Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

## RESUMO

No nascimento, os cães estão extremamente susceptíveis às doenças infecciosas. Esta vulnerabilidade poderá elevar a taxa de mortalidade. Deste modo, um aumento da resposta imunológica, nesta fase, seria conveniente a fim de tornar estes animais mais resistentes. O objetivo deste trabalho foi estabelecer valores de referência para o hemograma e proteinograma, de dois grupos experimentais de cães neonatos SRD. Os animais foram avaliados semanalmente, do 3º até seu 45º dia de vida. O grupo que não recebeu nenhum tipo de tratamento foi considerado controle, sendo o outro grupo, submetido ao tratamento com luteína (um carotenóide de ação imunomoduladora). A suplementação foi realizada diariamente com 2 mL de solução contendo 20 mg de luteína, por via oral, do 3º até o 38º dia de idade. Os dois grupos foram avaliados pela influência da idade, ingestão de colostro e sob o efeito da ação imunomoduladora da substância utilizada. Ocorreram alterações no eritrograma dos animais do grupo controle e luteína. A idade promoveu uma diminuição dos valores do eritrograma dos momentos M2 ao M5, após o qual, os valores voltaram a subir. O VCM persistiu em queda até o M7, pois as hemácias diminuem de tamanho ao longo do tempo. No leucograma, os leucócitos totais e os neutrófilos aumentaram seus valores com o passar da idade. A concentração sérica das proteínas totais e da fração gama-globulina diminuíram após o 3º dia, em função do catabolismo das imunoglobulinas, provenientes do consumo do colostro. Já a suplementação com luteína influenciou apenas, o número total de hemácias e a contagem total de neutrófilos e monócitos. As proteínas séricas e o proteinograma não foram afetados pela suplementação com luteína. Confirmou-se também com esse trabalho, que a enzima hepática GGT pode ser utilizada como um indicador da ingestão do colostro para cães neonatos.

**Palavras-chave:** Hemograma, neonatos, cães, proteinograma, luteína.

MARTINS, R.R. **Hemogram, proteinogram and gama-glutamyl transferase in neonate dogs, from 3<sup>d</sup> to 45<sup>th</sup> day of life under the effect of age and lutein supplementation.** 2005. 71p. Dissertation - MSc in Veterinary Medicine – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

### **ABSTRACT**

Dogs are extremely vulnerable to infectious diseases at birth. This vulnerability can elevate the mortality rate among newborns. Thereby, an increase on immunologic response at this stage would be much convenient in order to make them more resistant. The aim of this work was to establish the reference values for the blood cells count, and the electrophoresis of two experimental mixed dog groups with newborn puppies, from their third to forty-fifth day of life. The weekly evaluation was made in a period of seven weeks. Between these groups, the one that did not receive any kind of treatment was considered the control group, while the other one was submitted to a lutein treatment (that is, a carotenoid of immunoregulating action). The supplementation was gives orally at a dose of 2ml of solution containing 20mg of lutein each day, from the third to the thirty-eighth day of life. Both groups were evaluated by their age, colostrum ingestion influence, and effect over the immunoregulating action of the used substance. Alterations occurred on the erythrogram of both groups. The aging resulted in a decrease of the values of this erythrogram from the second week to the fifth week, after which the values analised again. The MCV kept falling till the seventh week, since the erythrocytes get smaller along the time. In the white blood cells count the total leukocytes and the neutrophils increased their values as aging occurred. The serum concentration of the total proteins and the gamma-globulin fraction decreased after the third day due to the immunoglobulins catabolism, which have come from the colostrum ingestion. The lutein supplementation presented an influence only over the total number of the red blood cells and the total neutrophils and monocytes count. The total serum proteins and the electrophoresis were not affected by the lutein supplementation. In this work it was also confirmed that the GGT hepatic enzyme could be utilized as an indicator of the colostrum ingestion by the newborn dogs.

**Key words:** Blood cells count, newborn, dogs, proteinogram, lutein.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>12</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>16</b>
2.1	Influência na faixa etária	16
2.1.1	Eritrograma	16
2.1.2	Leucograma	27
2.1.3	Proteinograma	18
2.1.4	Gama Glutamiltransferase	22
2.2	Influência da Luteína	23
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>26</b>
3.1	Local	26
3.2	Obtenção dos filhotes	26
3.3	Cuidados com os neonatos	27
3.4	Delineamento experimental	28
3.5	Colheita das amostras	30
3.6	Exames laboratoriais	31
3.6.1	Hemograma	31
3.6.2	Fracionamento das proteínas séricas e frações	31
3.6.3	Gama Glutamiltransferase	32
3.7	Análise estatística	32
<b>4</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>33</b>
4.1	Eritrograma	33
4.2	Leucograma	38
4.3	Proteinograma	43

4.4	Gama Glutamiltransferase	48
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO</b>	<b>51</b>
5.1	Influência na faixa etária	51
5.1.1	Eritrograma	51
5.1.2	Leucograma	53
5.1.3	Proteinograma	56
5.1.4	Gama Glutamiltransferase	58
5.2	Influência da Luteína	60
5.2.1	Eritrograma	60
5.2.2	Leucograma	60
5.2.3	Proteinograma	61
5.2.4	Gama Glutamiltransferase	62
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES</b>	<b>63</b>
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>64</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O Interesse por animais de companhia tem crescido atualmente e, apesar de, hoje, haver uma grande variedade de espécies consideradas como animais de estimação, o cão continua sendo o preferido. Os proprietários criam uma intensa relação de afetividade com esses animais, que, no mais das vezes, são tidos como integrantes da família. Além do valor sentimental, o comércio de cães de raça e de linhagens nobres, com alto valor econômico, tornou esse mercado ainda mais atrativo.

Considera-se neonato aquele filhote que ainda depende de sua mãe, para sobreviver; alimentar-se, aquecer-se, defecar, urinar etc. Esse período leva, aproximadamente 30 dias e, nele, todos os sistemas do animal (termorregulador, neurológico, renal, endócrino, ósteo-muscular, digestório e principalmente hepático) estão em processo de amadurecimento anatômico e fisiológico (HOSKINS, 2001).

O momento do nascimento é crítico, pelo fato de esses animais deixarem um local totalmente estéril (o útero) e serem lançados a um meio repleto de agentes patogênicos encontrados nas próprias condições ambientais, sendo esses expostos, pela primeira vez, a antígenos. O risco se deve à baixa concentração de anticorpos, ocasionando uma incidência significativa de mortalidade entre os neonatos, razão por que evitá-la, se faz necessário que os animais consigam controlar as invasões de patógenos num curto espaço de tempo. Neonatos de espécies domésticas nascem com o sistema imunológico quase maduro, porém subdesenvolvido. Apesar dessa imaturidade, os cães com menos de 3 semanas de vida conseguem ter uma resposta humoral tão rápida quanto os animais adultos,

porém a magnitude dessa resposta é menor em neonatos (SHIFRINE *et al.*, 1971; LEWIS *et al.*, 1973; BANKS, 1982; SELLON *et al.*, 1996; TIZARD, 2000).

O sistema imune do cão só estará completamente desenvolvido por volta de 6 a 8 semanas de vida e apresenta dois componentes principais: o inato e o adaptativo (TIZARD, 2000; HOSKINS, 2001).

O inato é chamado de inespecífico, por agir como a primeira linha de defesa frente a agentes invasores. Fazem parte desse sistema as barreiras físicas e bioquímicas dos epitélios e das mucosas, células fagocitárias (polimorfonucleares, monócitos e macrófagos) e as “natural killer” (NK) e constituintes protéicos sanguíneos, como os componentes do sistema complemento e as citocinas (interferons e interleucinas) (BANKS, 1982, TIZARD, 2000).

O sistema imunológico adaptativo, conhecido também como específico, envolve a participação dos linfócitos, que são as células responsáveis por reconhecer antígenos e montar a resposta de defesa, como produção de anticorpos e a destruição de células anormais. Os linfócitos têm duas populações principais, que se diferenciam durante a vida fetal, no fígado, baço e medula óssea; e, após o nascimento do animal, continuarão sendo produzidos nos órgãos linfóides (timo, linfonodos e baço) e medula óssea (JAIN, 1986). Basicamente, há uma divisão dos linfócitos, sendo que os linfócitos B compõem a chamada imunidade humoral, que é mediada por anticorpos. Já os linfócitos T caracterizam uma resposta imunológica mediada por células, é a imunidade celular (TIZARD, 2000).

A necessidade de pesquisas sobre recém-nascidos caninos se deve à escassez de referências sobre esse assunto na literatura. O hemograma é um importante elemento de diagnóstico, que reflete o estado de saúde do animal no momento da coleta. Ele permite avaliar se há capacidade de resposta de defesa do

---

organismo em frente de alguma ameaça. Além disso, existem grandes alterações durante o desenvolvimento do animal que são pouco conhecidas e interferem diretamente na avaliação clínica (HOSKINS, 2001).

O proteinograma tem significativo valor na clínica, uma vez que as proteínas estão envolvidas em vários processos vitais. O método de eletroforese fraciona as proteínas séricas. A atividade do anticorpo está presente, em sua maior parte, na fração das  $\gamma$ -globulinas e representa uma maneira efetiva de determinar se o animal absorveu ou não o colostro (JAIN, 1986).

A enzima gama glutamiltransferase (GGT) é uma indicadora da falha de transferência de imunidade passiva. Animais que mamam o colostro apresentam uma alta atividade dessa enzima (MEYER *et al.*, 1992).

Para que todos esses exames sejam bem utilizados, é necessário que se conheçam as variações fisiológicas de cada espécie, principalmente no animal em desenvolvimento. Por outro lado, a utilização de produtos imunoestimuladores permite esclarecer a ação dessas substâncias no sistema imunológico, na tentativa de proporcionarem melhores condições de defesa dos filhotes diante de possíveis estímulos antigênicos durante esse período inicial de sua vida. A substância utilizada no presente trabalho foi a luteína. Seu mecanismo de ação ocorre por suas propriedades antioxidantes e neutralizantes sobre os radicais livres, que são espécies de oxigênio reativo resultantes do curso normal do metabolismo celular e que podem causar danos ao sistema imunológico, ocasionando imunossupressão. Os antioxidantes têm como função básica estabilizar os radicais livres de alta reatividade e, dessa forma, manter a integridade estrutural e funcional das células (CHEW, 1996).



O objetivo deste trabalho foi, portanto, não apenas avaliar a influência da idade, mas também a suplementação oral com luteína no hemograma, proteinograma e na atividade sérica da enzima gama glutamiltransferase, em cães neonatos.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Influência na faixa etária

#### 2.1.1 Eritrograma

Em recém-nascidos, ocorrem alterações hematológicas significativas durante o desenvolvimento. Isso, porque, logo após o nascimento, certas particularidades inerentes ao período fetal ainda estão presentes por algum tempo, como, por exemplo, a grande quantidade de eritrócitos nucleados. Tiedmann (1977) descreveu, em gatos, que essas células correspondem a eritroblastos primitivos. O número de hemácias nucleadas diminui com o nascimento, todavia essas ainda estão presentes durante o primeiro mês de vida. Além disso, os eritrócitos fetais são relativamente grandes, o que faz com que, no nascimento, o VCM seja elevado, por volta de 95 a 100 fl (JAIN, 1993).

Há uma rápida substituição desses eritrócitos fetais por células de menor tamanho e, com isso, o VCM se reduzirá, chegando a valores semelhantes aos de referência para cães adultos (60 a 78 fl), por volta de 2 a 3 meses de idade. Devido à rápida troca dos eritrócitos fetais e à grande necessidade de compensar o crescimento, há um aumento da atividade eritropoiética, resultando em mais reticulócitos, cujo número, para adultos normais, é comumente menor que 2%. Já nos neonatos, está próximo dos 7%, podendo alcançar os 10% até os dois primeiros meses de vida (FELDMAN, 2000).

O CHCM sofre uma pequena variação com a idade (JAIN, 1993).

O hematócrito e a hemoglobina encontram-se próximos dos valores normais no nascimento, porém declinam rapidamente, em especial na primeira

semana de vida. Essa queda dos valores hematológicos, denominada “anemia fisiológica”, que acontece em diversas espécies, é atribuída à rápida expansão no volume plasmático, advindo do consumo do colostro, do aumento da destruição dos eritrócitos fetais, bem como do rápido crescimento do filhote e inadequado suprimento de ferro, que é necessário para a síntese da hemoglobina. A deficiência de ferro decorre da baixa quantidade existente em sua única fonte de alimento, o leite materno (JAIN, 1986).

### 2.1.2 Leucograma

As contagens totais e diferenciais de leucócitos são usadas para avaliar o estado geral de saúde de cães; e, embora raramente levem, sozinhas, a um diagnóstico, seus números e morfologia fornecem indícios da presença ou ausência de enfermidades básicas (HOSKINS, 2001).

No entanto, mesmo sendo tão importantes, existem poucas pesquisas sobre os valores de referência do leucograma em neonatos caninos. Quando o animal nasce, os valores dos leucócitos totais e, também, do diferencial estão um pouco acima dos valores de referência para cães adultos. A contagem total de leucócitos diminui durante a lactação. Entretanto deverá retornar aos valores de base, até que o filhote seja desmamado (FELDMAN, 2000).

Em um estudo realizado com cães de zero a três dias de vida, a contagem de neutrófilos bastonetes estava acima dos limites do adulto, indicando um desvio à esquerda. Ocasionalmente, metamielócitos neutrófilos são vistos durante esse período, sem nenhuma evidência de doença. Os bastonetes diminuem para os valores normais, com sete a 10 dias de vida. A contagem de linfócitos é

significativamente alta em cães jovens (HOSKINS, 2001). Toman *et al.* (2002) descreveram uma predominância de linfócitos em relação aos neutrófilos, na primeira semana de vida de cães da mesma raça.

### 2.1.3 Proteinograma

As proteínas são constituintes essenciais para todas as células do organismo, correspondendo a cerca de 18% do peso corporal dos animais, e, em sua maior parte, sintetizadas pelo fígado. Constituem um grupo de moléculas heterogêneas que atuam na formação das estruturas das células, na manutenção da pressão colóido-osmótica, na catalização de reações bioquímicas (enzimas), regulação (hormônios), coagulação e defesa humoral (anticorpos). Idade e nutrição são fatores de grande importância, que influenciam, diretamente, a quantidade de proteínas plasmáticas totais (KANEKO, 1997).

Durante a vida fetal, a concentração de proteínas é muito reduzida, devido às mínimas quantidades de imunoglobulinas e albumina. Esses baixos níveis de proteínas se devem a dois principais fatores. O primeiro está relacionado à imaturidade hepática, que ainda não desenvolve toda a sua capacidade de síntese. O segundo motivo é a transferência da imunidade da mãe para o feto, que ocorre de acordo com a estrutura da placenta. Cadelas possuem uma placenta do tipo endoteliocorial, mediante a qual, o epitélio coriônico está em contato com o endotélio dos capilares maternos. Nesse caso, somente uma pequena quantidade de anticorpos será transferida, passivamente, aos neonatos, via transplacentária (5,0 a 10,0%), sendo que o restante (90,0 a 95,0%) deverá ser adquirido por via colostrar (GILLETE & FILKINS, 1966; CHAPPUIS, 1998; TIZARD, 2000). Com a ingestão e

absorção do colostro, ocorre um rápido aumento nas imunoglobulinas (imunoglobulinas maternas) e uma queda na concentração da albumina sérica, provavelmente decorrente da hemodiluição (BOYD, 1989).

O colostro representa o acúmulo de secreções da glândula mamária ao longo das últimas semanas de gestação, que proporciona proteção imediata por meio de anticorpos transferidos passivamente nas primeiras 48 horas de vida, sendo sua ingestão fundamental para a sobrevivência do filhote. A atividade proteolítica do trato digestivo de animais bem jovens é baixa e, além disso, é minimizada pela presença de inibidores da tripsina no colostro. Dessa forma, as proteínas colostrais alcançam o intestino delgado, particularmente o íleo, onde são absorvidas por pinocitose e ativamente transportadas pelas células epiteliais; e destas irão para os capilares intestinais, ganhando a circulação sistêmica (SIMPSON-MORGAN & SMEATON, 1972). O tempo de permeabilidade do intestino às proteínas varia pouco entre espécies e por classe de imunoglobulinas. Brambell, apud Poffenbarger (1991), mostrou que, em cães, o pico de transmissão das imunoglobulinas acontece entre 8 e 15 horas, após o momento do parto. Em geral, a permeabilidade é alta logo após o nascimento, e declina rapidamente, devido à substituição desses enterócitos por outros enterócitos que não possuem habilidade de pinocitose e ao estabelecimento da flora intestinal, chegando, no máximo, a 24 horas. Por isso, é muito importante que o filhote mame logo ao nascer. Entretanto, esses anticorpos serão gradualmente catabolizados, deixando o receptor novamente susceptível a infecções (TIZARD, 2000).

O colostro contém, além dos nutrientes que proporcionam o crescimento, anticorpos (imunoglobulinas) e componentes celulares, incluindo linfócitos e células fagocitárias (neutrófilos e macrófagos), que têm um importante papel na proteção

precoce a doenças infecciosas (OPEDEBEECK, 1982). A imunidade transferida pelo colostro é determinada pelos níveis de imunoglobulinas sistêmicas da mãe, dependendo a quantidade de imunoglobulinas transferidas da quantidade de colostro ingerido e do quanto ele contém de imunoglobulinas (GILLETE & FILKINS, 1966; SALMON, 1999; ROGERS, 2001). Para as espécies pluríparas, o grau de imunidade passiva pode ser heterogêneo entre ninhadas e entre membros de uma mesma ninhada, devido à variabilidade de absorção colostrual (CHAPPUIS, 1998).

Com o declínio de anticorpos maternos em função da substituição normal, o animal rapidamente ganha imunocompetência e passa a produzir suas próprias imunoglobulinas (KANEKO, 1997; JAIN, 1986). As proteínas irão atingir os níveis de concentração de adulto por volta dos seis meses a um ano de vida (JAIN, 1993). Conforme o avanço da idade, há um aumento geral nas proteínas totais, onde a relação globulinas albumina aumenta.

A eletroforese analisa a heterogenicidade em proteínas individuais. Na eletroforese, o princípio da separação das proteínas séricas é baseado na migração das partículas protéicas, num campo elétrico. A direção e a velocidade da migração de partículas é baseada no tamanho e tipo de carga da proteína (positiva ou negativa) e intensidade do campo elétrico (KANEKO, 1997). O fracionamento das proteínas séricas, usando-se a 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 e nas diversas enfermidades (HERZ & HOD, 1969; NAOUM, 1990; KANEKO, 1997).

Os resultados da eletroforese, quando devidamente interpretados, podem ser muito úteis no auxílio à avaliação clínica, pois pequenas mudanças no padrão eletroforético podem ser consideradas diagnóstico de doenças infecciosas

específicas ou tumores, como é o caso do mieloma múltiplo (ALENCAR FILHO, 1974; PFEIFFER *et al.*, 1977; SAMADIEH *et al.* 1978; PINHEIRO *et al.*, 1980; YOSHIDA, 1986; KANEKO, 1997). A eletroforese, em intervalos regulares, pode ser de grande utilidade na avaliação da resposta do animal a um tratamento (OSBALDISTON, 1972). No entanto, é necessário que haja uma padronização dos valores normais do perfil eletroforético (KEAY & DOXEY, 1982a), assim como das mudanças que ocorrem nas diversas enfermidades em cada espécie animal (OSBALDISTON, 1972; ALENCAR FILHO, 1974) e nas diferentes faixas etárias (DESIDERIO *et al.*, 1979; KEAY & DOXEY, 1982b).

Em estudo feito por Chuang (2001), usando a eletroforese para análise das proteínas séricas, comparando-se cães jovens com adultos, foi mostrado que a banda  $\alpha$ 1-globulina, em cães jovens (22,4%), é mais alta que nos adultos (14,3%). Entretanto as bandas  $\alpha$ 2,  $\beta$ 1,  $\beta$ 2 e  $\gamma$ -globulinas, em animais jovens, têm valores mais baixos que os adultos. Cães de um dia de idade, antes de ingerir o colostro, não apresentavam a  $\gamma$ -globulina. No entanto, logo após mamarem, a concentração de  $\gamma$ -globulina aumentou e rapidamente diminuiu. A partir da 3ª semana de vida (21 dias), a concentração de  $\gamma$ -globulina começa a aumentar lentamente, com o avanço da idade (KANEKO, 1997).

A albumina é a proteína mais abundante do soro, constitui entre 35-50% das proteínas séricas totais. Seu papel mais importante é sua função metabólica de se ligar e transportar outras proteínas. Praticamente, todos os constituintes do plasma que não necessitam ser transportados por uma proteína específica utilizam, para esse fim, a albumina (KANEKO, 1997).

A concentração  $\alpha$ -globulina aumenta nos traumas e no decorrer de estados febris. São, basicamente, as proteínas de fase aguda, lipoproteínas de alta densidade e alfa-fetoproteína (FELDMAN *et al.*, 2000).

A concentração sérica de  $\beta$ -globulina geralmente irá aumentar durante a gestação e nas doenças hepáticas. Entre os seus componentes mais importantes, estão os complementos (C3, C4), hemopexina, transferrina, proteína C reativa e fibrinogênio (KANEKO, 1997).

A  $\gamma$ -globulina, produzida pelos linfócitos e células plasmáticas, contém anticorpos (imunoglobulinas). São elas as IgA, IgE, IgG e IgM. Segundo um estudo feito por Kim (2000a), a alteração mais significativa encontrada com a mudança de idade ocorreu nas frações de  $\gamma$ -globulina. Antes da ingestão do colostro, os níveis de  $\gamma$ -globulina são extremamente baixos, ocorrendo um abrupto aumento de seus níveis após a ingestão do colostro, chegando ao seu pico com 24 horas de vida e sofrendo um decréscimo logo em seguida, devido à ausência de produção das imunoglobulinas pelo neonato.

O diagnóstico da falha da passagem passiva de imunidade é muito importante para os clínicos, porquanto permite a prescrição de um tratamento adequado para esses animais.

#### 2.1.4 Gama Glutamiltransferase

A atividade da enzima gama glutamiltransferase é alta em bezerros que ingerem o colostro, sendo esta proporcional à quantidade de colostro ingerida (PERINO 1993; WESSELINK *et al.*, 1999). Tessman *et al.* (1997) também sustentam que a GGT pode ser utilizada para a verificação da passagem de imunidade passiva



para os cordeiros neonatos. Pelos resultados desses trabalhos, a GGT tem sido considerada indicadora da absorção ou não de imunoglobulinas do colostro.

## 2.2 Influência da luteína

Apesar da fragilidade dos recém-nascidos, há possibilidade de modificações das condições imunológicas diante dos estímulos antigênicos, visando uma melhor resposta do organismo, que poderá ser proporcionada pela utilização de produtos imunomoduladores. A atividade imunoestimulante pode ser adquirida por uma ampla variedade de substâncias produzidas a partir de bactérias atenuadas, carboidratos complexos, anti-helmínticos, hormônios tímicos, vitaminas, citocinas e vírus inativados (TAURA *et.al.*, 1995; TIZARD, 2000).

Dentre os imunomoduladores, a família dos carotenóides vem apresentando excelentes perspectivas. Carotenóides constituem um grupo de pigmentos naturais, lipossolúveis, que absorvem luz e conferem colorações amarela, alaranjada e/ou vermelha aos vegetais e a algumas frutas. Estão sempre presentes nos tecidos fotossintéticos (raízes, flores, sementes e frutos), embora mascarados pela clorofila.

Alguns pesquisadores demonstraram que a ação modulatória dos carotenóides não era proporcionada pela atividade pró-vitamina A, mas, sim, pelo efeito antioxidante, que desativa os radicais livres, protege a integridade da célula contra seus efeitos deletérios e regula a função imunológica celular (BURTON & INGOLD, 1984; BENDICH & SHAPIRO, 1986; BURTON, 1989; KRINSKY, 1989; CANFIELD *et al.*, 1992; JIONOUCHI *et al.*, 1995; CHEW, 1995; CHEW *et al.* 1996b).

Durante o curso normal do metabolismo celular aeróbico, exposição a radiações ionizantes ou ingestão de substâncias químicas, são produzidas continuamente algumas espécies de oxigênio reativo, como o radical ânion superóxido, peróxido de hidrogênio, radical hidróxila e o oxigênio molecular *singlet*. Esses elementos, denominados radicais livres, são altamente instáveis, apresentam elétrons não pareados na órbita externa e multiplicam-se rapidamente, à procura desse pareamento. Para isso, desestabilizam outras moléculas, que necessitam ceder seus elétrons. Essas doações denominam-se, bioquimicamente, reação de oxi-redução e, se não forem eliminadas, lesam as células, trazendo prejuízos ao DNA, às proteínas, aos carboidratos e aos lipídeos, além de produzir uma ação imunossupressora (CHEW, 1996b; PENG *et al*, 2000).

Embora o próprio organismo produza enzimas antioxidantes (superóxido dismutase, catalase, glutathione peroxidase), que catalizam as reações e previnem os efeitos das oxidações, essas não são suficientes para prevenir a formação de radicais livres. Portanto, manter uma dieta com carotenóides é desejável, uma vez que os antioxidantes atuam estabilizando os radicais livres altamente reativos, mantendo, então, a integridade funcional e estrutural da célula (Di MASCIO *et al.*, 1991; CANFIELD *et al.*, 1992; THURNHAM, 1994).

A luteína é um carotenóide que não se converte em vitamina A, mas que tem uma potente ação antioxidante. É abundante na natureza, podendo ser obtida de extratos de flores de *Tagetes erecta*. É o mais importante carotenóide encontrado no plasma de humanos (BURRI, 1997) e de alguns animais, como bezerros, galinhas e ratos (CHEW, 1995).

As pesquisas com a luteína têm aumentado na última década e, com elas, chegou-se a importantes descobertas. Ratos alimentados com a luteína tiveram um

aumento na phitohemaglutinina (PHA), que estimula a resposta proliferativa de linfócitos *in vitro* (CHEW *et al.*, 1996a) e aumenta a produção de anticorpos em resposta a antígenos dependentes de células T (JYONOUCHI *et al.*, 1994). A suplementação dietética com luteína também foi capaz de prevenir mudanças nas subpopulações de linfócitos associados ao processo tumoral (CHEW & PARK, 2004).

A concentração plasmática de luteína é dose-dependente. Num estudo realizado por Chew em 1998, mostrou-se, pela primeira vez, que cães são capazes de absorver a luteína vinda da dieta e transferí-la para dentro de frações subcelulares, tanto de linfócitos quanto de neutrófilos circulantes. Em 2000, Kim *et al.* concluíram que a concentração plasmática da luteína aumenta rapidamente após 2 semanas de suplementação, sendo sua meia-vida plasmática de, aproximadamente, 20 horas. A dieta suplementada com luteína estimulou tanto a resposta imune celular quanto a humoral de cães domésticos (KIM *et al.*, 2000a), razão por que ela é conhecida, por possuir uma atividade imune regulatória.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Local

A pesquisa foi desenvolvida no Setor canil-maternidade do Hospital Veterinário da FMVZ – UNESP, Botucatu e os exames realizados no Laboratório Clínico Veterinário “Dra Agnemi Kohayagawa” da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade Estadual Paulista (UNESP) - Campus Botucatu.

#### 3.2 Obtenção dos filhotes

Foram utilizadas 5 cadelas adultas gestantes, sem raça definida, clinicamente saudáveis, de porte médio a grande, pesando entre 15 e 25 Kg, provenientes do Biotério Central da Unesp, Campus de Botucatu. Esses animais foram mantidos em jaulas individuais do canil-maternidade, recebendo ração comercial para filhotes<sup>1</sup>, que suplementa as necessidades das cadelas gestantes, e água à vontade. Duas vezes ao dia, essas cadelas realizavam passeio ao ar livre, sempre acompanhadas e mantidas na coleira.

Antes de apresentar estro, as cadelas foram vacinadas, vermifugadas e submetidas a exames, entre eles hemograma, urinálise, parasitológico de fezes e sorologia para leptospirose e brucelose, para averiguação de sua higidez.

A confirmação e acompanhamento da gestação, assim como a previsão do período mais exato do parto foi feita por meio de exame ultra-sonográfico,

---

<sup>1</sup> Ração Pedigree® Puppy

realizado pelo Departamento de Reprodução da FMVZ, Unesp, Campus de Botucatu. Aproximadamente 15 dias antes da data prevista para o parto, essas cadelas foram novamente avaliadas pelo hemograma, urinálise e parasitológico de fezes.

### 3.3 Cuidados com os neonatos

Logo ao nascer, todos os filhotes foram submetidos ao exame físico conforme recomendado por Breasile (1978) e McCurnin & Poffenbarger (1991). Esse exame se repetiu semanalmente, até que completassem 45 dias de vida. Quanto ao desenvolvimento, os neonatos foram avaliados pelo ganho de peso. A pesagem foi diária, do 3º ao 10º dia de vida, passando a ser semanal após esse período, até 31 dias pós-parto. Do nascimento aos 25 dias, esses filhotes tiveram a companhia de suas respectivas mães nas caixas-maternidade. A alimentação foi exclusivamente com leite materno até os 20 dias de vida; e, a partir do 21º dia de idade, iniciou-se uma dieta pastosa com leite desnatado<sup>2</sup> e farináceo<sup>3</sup>, fornecida três vezes ao dia (HOSKINS, 2001). No 20º dia de vida, os animais também receberam anti-helmintíco febendazole<sup>4</sup>, na dose de 50mg/kg, via oral, uma vez ao dia, durante 3 dias consecutivos.

Aos 28 dias, foi introduzida, na dieta, ração comercial para filhotes em crescimento, misturada ao leite desnatado, que era intercalada com as mamadas. O desmame completo ocorreu aos 35 dias de vida, quando os animais foram

---

<sup>2</sup> Italac – Leite UHT desnatado. Indústria de Laticíneos Ltda. – Corumbáiba, GO.

<sup>3</sup> Farinha Láctea Nestlé – Fábrica de Laticínios – São José do Rio Preto, SP.

<sup>4</sup> Panacur®comprimidos – Hoechst Roussel Vet.

separados de suas mães, passando a receber apenas ração comercial para filhotes em crescimento, oferecida quatro vezes ao dia.

### 3.4 Delineamento experimental

Os animais selecionados para esse experimento foram submetidos aos mesmos cuidados de acomodação e condições de manejo. Foram utilizados 20 cães recém-nascidos, sendo, desses, 10 machos e 10 fêmeas, sem raça definida, provenientes de 5 cadelas diferentes, e divididos em grupos, aleatoriamente. Todas as cadelas tiveram filhotes nos dois grupos. Os neonatos foram identificados por um bracelete de esparadrapo fixado na região do pulso do animal.

Logo após o nascimento, em seguida, ao primeiro exame físico, os neonatos foram identificados por número e grupo, com um bracelete confeccionado de esparadrapo. No 3º dia de vida, foi realizada uma coleta de sangue dos dois grupos de animais. Após a primeira coleta, as seguintes foram realizadas semanalmente e sempre pela manhã. As avaliações foram realizadas em 7 momentos - M1 (3ºdia), M2 (10ºdia), M3 (17ºdia), M4 (24ºdia), M5 (31ºdia), M6 (38ºdia), M7 (45ºdia) que foram iguais para todos os grupos a seguir:

#### **Grupo Controle (GC)**

O primeiro grupo foi composto por 10 animais, sendo 5 fêmeas e 5 machos, que não receberam nenhum tipo de tratamento.

### **Grupo Luteína (GL)**

O segundo grupo, também com 10 animais, entre eles 5 machos e 5 fêmeas, recebeu 2 mL de solução oleosa, contendo 20 mg de luteína, administrada com uma seringa, por via oral, diariamente, no mesmo horário (pela manhã), do 3º até o 38º dia de vida, para detectar algum possível efeito da suspensão da administração do imunógeno, nos exames realizados.

A luteína<sup>5</sup> encontrava-se na concentração de 1g/100mL de óleo de milho, acondicionado em frasco âmbar, em temperatura ambiente.



FIGURA 1 - Frascos âmbar contendo 1 g de luteína diluído em 100 mL de óleo de milho.

<sup>5</sup> Pharma Nostra Comercial Ltda – Farmácia de Manipulação - Rio de Janeiro, RJ.

### 3.5 Colheita das amostras

As amostras de sangue foram colhidas por venipunção da jugular, com agulha 25x7 e seringas plásticas descartáveis, após tricotomia e antissepsia do local com álcool iodado. Para o hemograma, foi coletado um volume aproximado de 0.5ml em seringas de 1mL, umedecidas com anticoagulante EDTA a 10%. Logo após a coleta, as amostras foram encaminhadas ao Laboratório Clínico Veterinário para a realização das análises. Para os exames bioquímicos, foram coletados 2 mL de sangue, colocados em um tubo, com gel ativador<sup>6</sup>, deixando coagular. Então os tubos foram centrifugados a 1500 rotações/minuto e o soro sobrenadante, separado por aspiração. As amostras foram estocadas em tubos de eppendorf e congeladas a -20°C, até o processamento das amostras.



FIGURA 2 – Punção da veia jugular de filhote

---

<sup>6</sup> Vacutainer®-Gel Clot Activator System – Juiz de Fora, MG



### 3.6 Exames laboratoriais

#### 3.6.1 Hemograma

A contagem total de eritrócitos e leucócitos foi realizada em contador eletrônico de células<sup>7</sup>. A dosagem de hemoglobina foi realizada pelo método cianometahemoglobina e o volume globular, determinado por meio do método do microhematócrito. O volume corpuscular média e a concentração de hemoglobina corpuscular média se deu por cálculo dos índices hematimétricos (WINTROBE, 1929; 1932). A contagem diferencial de leucócitos foi efetuada por meio de esfregaços sangüíneos, corados por panótico<sup>8</sup>. A determinação das proteínas plasmáticas totais foi realizada por meio do método de refratometria.

#### 3.6.2 Proteínas totais séricas e frações

A proteína sérica total foi determinada pelo método colorimétrico mediante reação de Biureto<sup>9</sup>.

A eletroforese foi realizada em gel de agarose<sup>10</sup>, utilizando-se solução de tampão veronal pH 9,5, onde a placa de gel foi embebida e colcada em uma cuba de eletroforese, ligada a uma fonte de corrente elétrica de 100 milivolts durante 40 minutos.

---

<sup>7</sup> Contador eletrônico de células®- Celm – Modelo CC 510

<sup>8</sup> Corante Panótico para Hematologia - Laborclin

<sup>9</sup> In Vitro Diagnóstica Ltda – Barbacena, MG

<sup>10</sup> Celmigel

A coloração das placas foi realizada em negro de amido 0,2% por cinco minutos, e, em seguida, imersa em solução de ácido acético, a 5% por mais cinco minutos, para a sua fixação. A leitura realizada em densitometria<sup>11</sup>, em 520 nm.

### 3.6.3 Gama Glutamiltransferase

A determinação da gama glutamiltransferase (GGT) foi realizada pelo método cinético colorimétrico, mediante reação com a p-nitoanilina, de acordo com as recomendações do kit comercial<sup>12</sup>.

## 3.7 Análise estatística

Realizou-se o teste de Análise de Variância de Medidas Repetidas (ANOVA), com o objetivo de se verificar a diferença entre os momentos avaliados. Para a avaliação entre os grupos, foi utilizado o Teste T de Student. Em todas as análises o nível de significância utilizado foi de 5% (CURI, 1997).

---

<sup>11</sup> Densitometro Celm – Modelo DS - 35

<sup>12</sup> Gama GT – Celm – Cia. Equipadora de Laboratórios Modernos – Barueri, SP – Brasil

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Eritrograma

Na tabela 1, estão apresentadas médias (figura 3) e os desvios-padrão do número total de hemácias/ $\mu\text{L}$  nas amostras de sangue periférico de cães neonatos do 3º ao 45º dia de idade, submetidos ou não à terapia imunomodulatória. Na análise da diferença entre momentos do grupo controle (GC), M1 apresentou valor maior e diferente de todos os outros momentos. M2 foi estatisticamente igual a M3 e M4, que não apresentaram diferença estatística significativa ( $p>0,05$ ) entre si; nem de M5. Porém M2 apresentou-se estatisticamente diferente ( $p<0,05$ ) e maior que M5. Entre os M6 e M7, também houve ausência de diferenças significativas. O M2 foi igual ao M6, mas diferente e menor que M7. No grupo luteína (GL), o M1, assim como no GC, apresentou-se estatisticamente diferente e com valores superiores a todos os outros momentos. O M2 e M6 não apresentaram diferença significativa ( $p<0,05$ ), todavia foram diferentes e menores que M7. O M3 foi igual ao M4 e M5.

Quanto à diferença entre grupos para cada momento, no M3, o grupo controle (GC) foi estatisticamente diferente e maior que o grupo luteína (GL). No M6, ocorreu o mesmo, sendo que o GC também foi diferente e maior que o GL.

De igual forma, na tabela 1, estão demonstradas as médias (figura 4) e os desvios-padrão da análise estatística da concentração de hemoglobina. Na análise da diferença entre momentos, em cada grupo, constatou-se que M1 apresentou valor maior que todos os outros momentos. M2 foi diferente dos demais e com valor menor apenas que M1. M3 não apresentou diferença de M6,

os quais não tiveram diferença significativa de M4 e M7. Entretanto M4 foi diferente ( $p > 0,05$ ) e menor que M7. Já o M5 se mostrou com o menor valor de todos os momentos. No GL, o momento que apresentou o maior valor de todos foi M1, também seguido por M2, que não foi igual a nenhum outro momento. M3 e M7 não apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre si, e foram maiores que M4, M5 e M6, que de igual forma, foram estatisticamente iguais entre si.

Em relação à concentração de hemoglobina, os grupos controle e luteína não apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) em nenhum dos momentos.

O hematócrito ou volume globular (VG) tem suas médias (figura 5) e desvios-padrão apresentadas na tabela 1. Com a realização da análise entre momentos, em cada grupo, no GC, o M1 apresentou valores superiores a todos os outros momentos e M2 não apresentou semelhança com nenhum outro, sendo menor apenas que M1. Não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os M3, M4, M6 e M7. Ademais o M4 se mostrou igual a M5. Entretanto M5 foi estatisticamente diferente ( $p > 0,05$ ) e menor que M3, M6 e M7. No GL, assim como ocorreu no GC, o M2 foi diferente e maior que todos os outros momentos, apresentando valor menor apenas que M1. Os momentos M3, M4, M5 e M6 foram iguais. Já M7, que não apresentou diferença estatística significativa de M3, M4 e M6, foi diferente ( $p > 0,05$ ) e maior que M5.

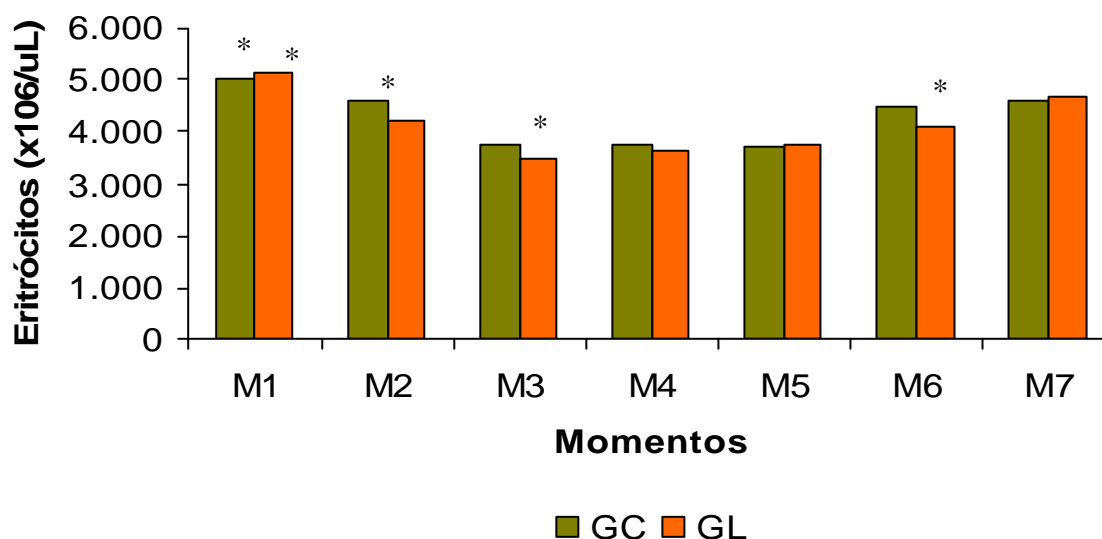
Quanto à diferença entre os grupos controle e luteína em cada momento, não houve diferença para nenhum momento, quanto ao hematócrito.

Os valores das médias (figura 6) e desvios-padrão do VCM estão inseridos na tabela 1, onde se analisou a diferença entre momentos para cada grupo. Os valores do VCM decresceram ao longo do tempo. O M1 apresentou

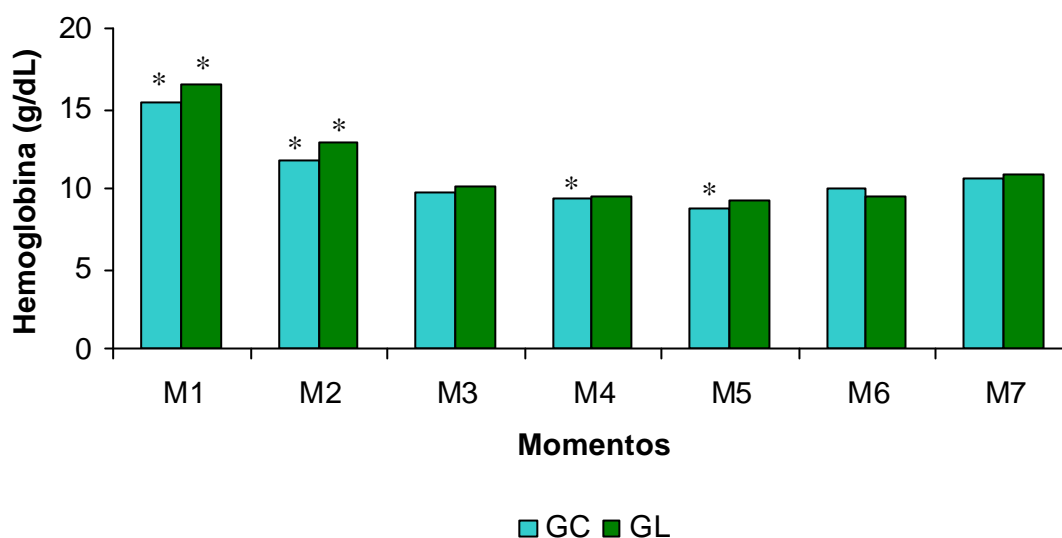
valor superior a todos os momentos, seguido de M2, que foi maior e diferente de M3. O M3 foi diferente e maior que M4, que também foi diferente e maior que M5. Somente M6 e M7 foram iguais ( $p>0,05$ ) estatisticamente, porém menores e diferentes ( $p<0,05$ ) de todos os outros momentos. No grupo luteína, o que ocorreu foi semelhante ao GC. Entretanto, neste, M6 e M7 também não apresentaram diferença significativa de M5.

Na análise da diferença entre grupos controle e luteína do VCM, não houve diferença significativa ( $p>0,05$ ) em nenhum momento.

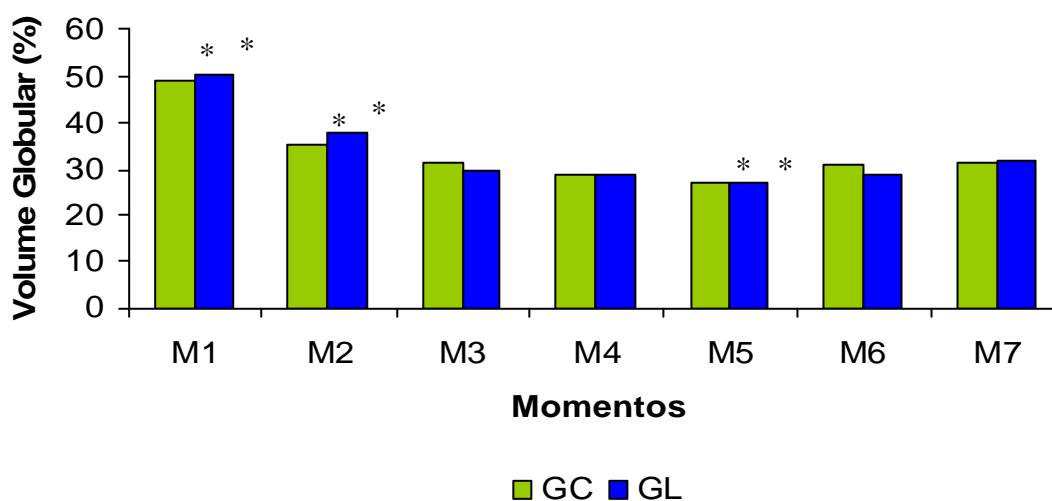
Os valores médios (figura 7) do CHCM estão representados na tabela 1, e não foi observada diferença significativa entre momentos, em nenhum dos grupos. Já na análise da diferença entre grupos de cada momento, só houve diferença significativa ( $p>0,05$ ) entre GC e GL, no 5º momento (31 dias).



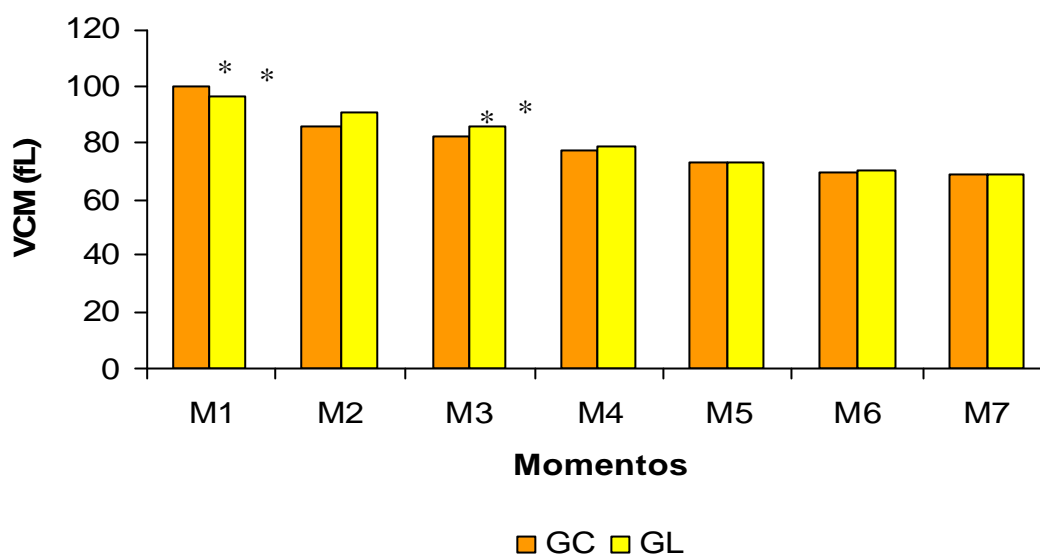
**FIGURA 3** – Evolução das médias do número total de hemácias ( $\times 10^6/\mu\text{L}$ ), de neonatos caninos aos 3, 10, 17, 24, 31, 38 e 45 dias de vida, correspondendo respectivamente aos momentos M1 a M7, dos animais do grupo controle (GC) e do grupo luteína (GL).



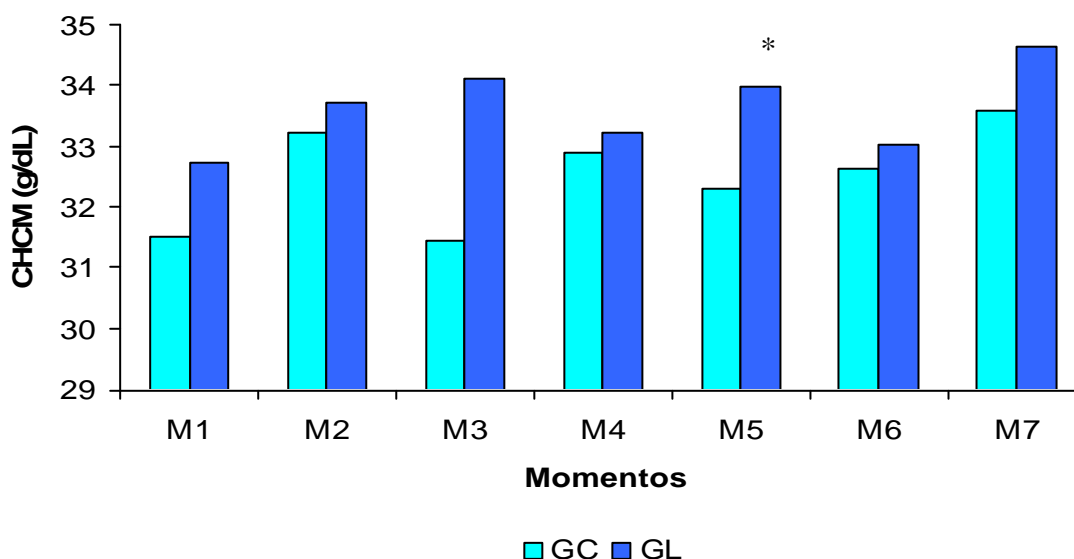
**FIGURA 4** – Evolução das médias da concentração de hemoglobina (g/dl), de neonatos caninos aos 3, 10, 17, 24, 31, 38 e 45 dias de vida, correspondendo respectivamente aos momentos M1 a M7, dos animais do grupo controle (GC) e do grupo luteína (GL).



**FIGURA 5** – Evolução das médias do hematócrito ou volume globular (%), de neonatos caninos aos 3, 10, 17, 24, 31, 38 e 45 dias de vida, correspondendo respectivamente aos momentos M1 a M7, dos animais do grupo controle (GC) e do grupo luteína (GL).



**FIGURA 6** – Evolução das médias do volume corpuscular médio - VCM (fL), de neonatos caninos aos 3, 10, 17, 24, 31, 38 e 45 dias de vida, correspondendo respectivamente aos momentos M1 a M7, dos animais do grupo controle (GC) e do grupo luteína (GL).



**FIGURA 7** – Evolução das médias da concentração de hemoglobina corpuscular média - CHCM (g/dL), de neonatos caninos aos 3, 10, 17, 24, 31, 38 e 45 dias de vida, correspondendo respectivamente aos momentos M1 a M7, dos animais do grupo controle (GC) e do grupo luteína (GL).

**Tabela 1** - Médias e desvio padrão ( $\bar{x} \pm s$ ) do número total de eritrócitos, concentração de hemoglobina, volume globular, volume corpuscular médio, hemoglobina corpuscular média e concentração de hemoglobina corpuscular média de neonatos caninos aos 3, 10, 17, 24, 31, 38 e 45 dias de vida, correspondendo respectivamente aos momentos M1 a M7, em 10 animais tratados VO, 1x dia, com 20 mg de luteína (grupo luteína).

		Eritrócitos ( $\times 10^3/\text{mL}$ )	Hemoglobina (g/dL)	VG (%)	VCM (fL)	CHCM (g/dL)
<b>M1</b>	<b>GC</b>	4991,0 <sup>Ab</sup> ±297,5	15,38 <sup>Ab</sup> ±1,094	49,1 <sup>Ab</sup> ±4,15	99,6 <sup>Ab</sup> ±6,84	31,5 <sup>Aa</sup> ±1,34
	<b>GL</b>	5134,0 <sup>Ab</sup> ±596,2	16,49 <sup>Ab</sup> ±1,614	50,4 <sup>Ab</sup> ±4,67	96,4 <sup>Ab</sup> ±8,90	32,7 <sup>Aa</sup> ±1,76
<b>M2</b>	<b>GC</b>	4140,0 <sup>Ac</sup> ±193,4	11,77 <sup>Ac</sup> ±1,050	35,4 <sup>Ad</sup> ±3,06	85,6 <sup>Ad</sup> ±8,42	33,2 <sup>Aa</sup> ±1,34
	<b>GL</b>	4177,0 <sup>Ac</sup> ±513,9	12,86 <sup>Ad</sup> ±1,574	38,0 <sup>Ad</sup> ±4,45	91,2 <sup>Ac</sup> ±7,99	33,7 <sup>Aa</sup> ±1,0
<b>M3</b>	<b>GC</b>	3765,0 <sup>Bac</sup> ±242,4	9,75 <sup>Ac</sup> ±1,072	31,1 <sup>Ac</sup> ±2,96	82,5 <sup>Ac</sup> ±5,55	31,5 <sup>Aa</sup> ±3,38
	<b>GL</b>	3489,0 <sup>Aa</sup> ±123,2	10,13 <sup>Ac</sup> ±0,794	29,7 <sup>Ac</sup> ±1,83	85,2 <sup>Ad</sup> ±5,75	34,1 <sup>Aa</sup> ±2,17
<b>M4</b>	<b>GC</b>	3746,0 <sup>Ac</sup> ±276,1	9,48 <sup>Ac</sup> ±0,567	28,9 <sup>Ac</sup> ±2,73	77,2 <sup>Ad</sup> ±6,26	32,9 <sup>Aa</sup> ±1,87
	<b>GL</b>	3661,0 <sup>Aa</sup> ±242,3	9,53 <sup>Aa</sup> ±0,688	28,7 <sup>Ac</sup> ±2,41	78,5 <sup>Ac</sup> ±6,95	33,2 <sup>Aa</sup> ±1,76
<b>M5</b>	<b>GC</b>	3696,0 <sup>Aa</sup> ±390,6	8,72 <sup>Aa</sup> ±0,520	27,0 <sup>Aa</sup> ±1,49	73,5 <sup>Ac</sup> ±5,76	32,3 <sup>Aa</sup> ±1,89
	<b>GL</b>	3724,0 <sup>Aa</sup> ±343,2	9,25 <sup>Aa</sup> ±0,778	27,2 <sup>Aa</sup> ±2,20	73,3 <sup>Aa</sup> ±6,96	34,0 <sup>Ba</sup> ±0,91
<b>M6</b>	<b>GC</b>	4470,0 <sup>Bde</sup> ±371,0	10,01 <sup>Ac</sup> ±0,367	30,7 <sup>Ac</sup> ±1,57	69,5 <sup>Aa</sup> ±5,15	32,6 <sup>Aa</sup> ±1,21
	<b>GL</b>	4118,0 <sup>Ac</sup> ±319,7	9,53 <sup>Aa</sup> ±0,636	28,9 <sup>Ac</sup> ±2,47	70,4 <sup>Aa</sup> ±6,89	33,0 <sup>Aa</sup> ±2,22
<b>M7</b>	<b>GC</b>	4624,0 <sup>Ac</sup> ±705,9	10,56 <sup>Ad</sup> ±1,128	31,5 <sup>Ac</sup> ±2,99	68,8 <sup>Aa</sup> ±6,45	33,6 <sup>Aa</sup> ±1,95
	<b>GL</b>	4670,0 <sup>Ad</sup> ±547,1	10,91 <sup>Ac</sup> ±0,657	31,6 <sup>Ac</sup> ±2,12	68,2 <sup>Aa</sup> ±6,33	34,6 <sup>Aa</sup> ±3,21

<sup>A</sup> Para letras maiúsculas iguais não há diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os grupos.

<sup>a</sup> Para letras minúsculas iguais não há diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os momentos.

## 4.2 Leucograma

A tabela 2 mostra a análise entre os momentos, em cada grupo, para os leucócitos totais, os quais não foram constatadas diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) entre as médias (figura 8) nos animais do Grupo Controle. Para o grupo luteína (GL), as médias de M1, M3 e M6 foram iguais, e inferiores à de M4, que igualmente foi diferente e menor que M2, M5 e M7, que apresentaram comportamentos iguais.



Na análise entre grupos, em relação aos leucócitos totais, constatou-se que não ocorreram diferenças significativas entre os grupos, em qualquer dos momentos testados.

Ainda na tabela 2, estão demonstradas as médias (figura 9) dos neutrófilos, onde não houve diferença significativa entre momentos, nos animais do GC. Já no GL, os momentos 1, 2, 3, 4 e 6 não apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ), e seus valores foram inferiores a M5 e M7, os quais foram iguais entre si.

Na análise da diferença entre grupos, só houve diferença significativa entre os grupos no M4 e M6, onde GC apresentou valores superiores aos valores médios do GL.

Na análise dos linfócitos, representados na tabela 2, figura 10, para a diferença entre momentos, em cada um dos grupos, verificou-se, no grupo controle, que os momentos dois, 3, 5, 6 e 7 não tinham diferença estatística significativa entre si, e eram iguais, também, de M1 e de M4. Porém M1 mostrou-se diferente ( $p < 0,05$ ) e menor que M4.

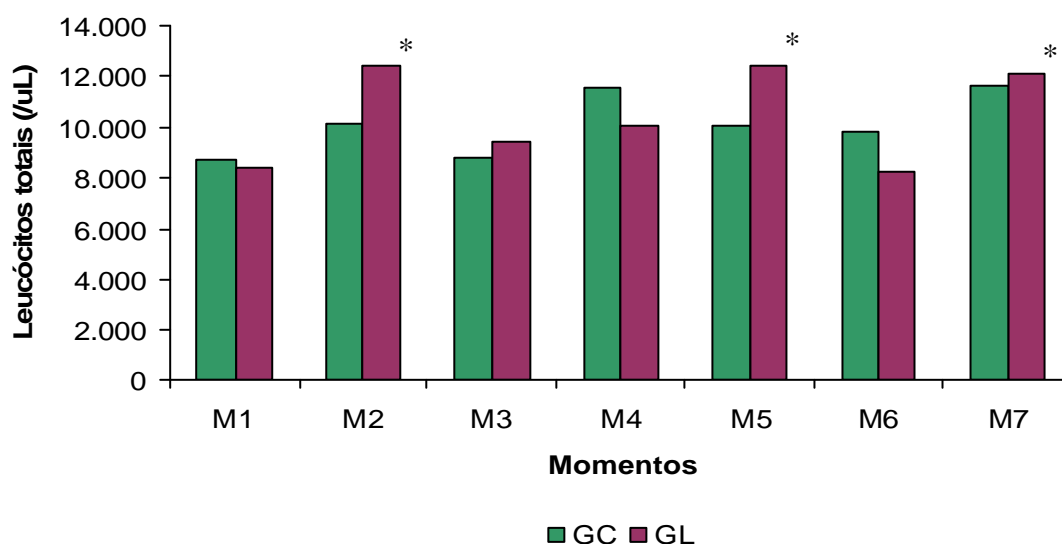
No GL, o M1 foi inferior e diferente de M2 e M5, que foram iguais. Os momentos 3, 4, 6 e 7, de igual forma, foram estatisticamente iguais. Com relação ao número absoluto de linfócitos, não foi observada diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

Observando-se as médias dos valores absolutos para os monócitos (tabela 2, figura 11), em relação à análise da diferença entre momentos, em cada grupo, tanto no GC quanto no GL, não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) em nenhum momento.

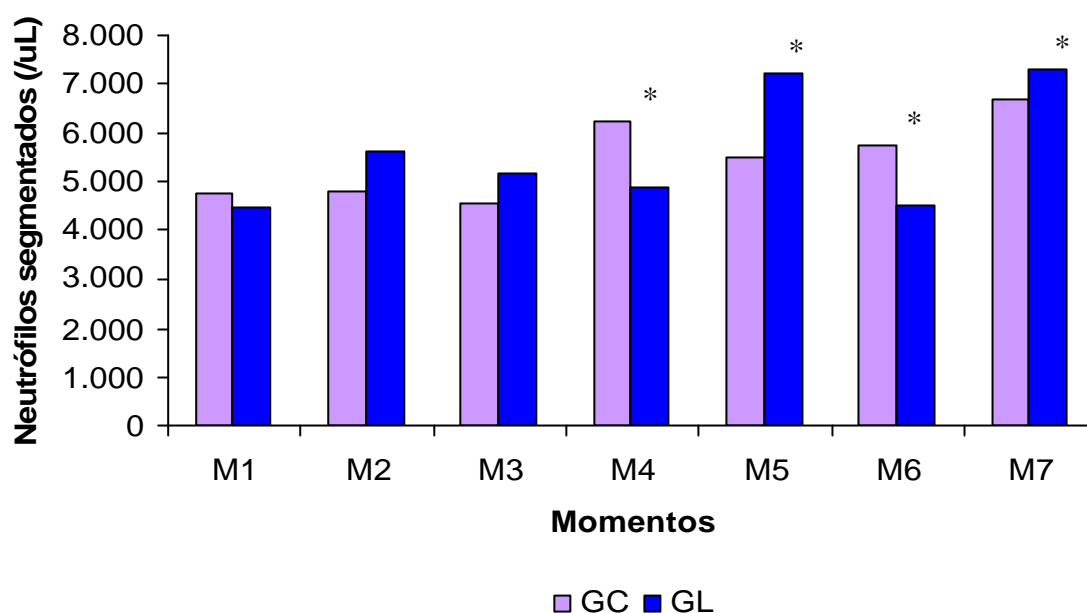
Quanto à análise entre grupos, em cada momento, com exceção do M2, quando o GL foi diferente e maior que GC, em todos os outros momentos, nos grupos, não ocorreram diferenças significativas.

Para os eosinófilos (tabela 2, figura 12), a análise da diferença entre os momentos, de cada grupo, demonstra que, no GC M1 e no M3, não ocorreram diferenças significativas. No entanto M2 apresentou valor diferente e superior a todos os outros momentos. Os momentos 4, 5, 6 e 7 foram iguais, e menores que os demais. No GL, M1 e M3 foram iguais entre si e também a M4 e M5; igualmente foram iguais a M6 e M7. Não obstante M1 e M3 foram diferentes ( $p>0,05$ ) e maiores que M6 e M7. Já M2 obteve valor superior a todos os outros momentos.

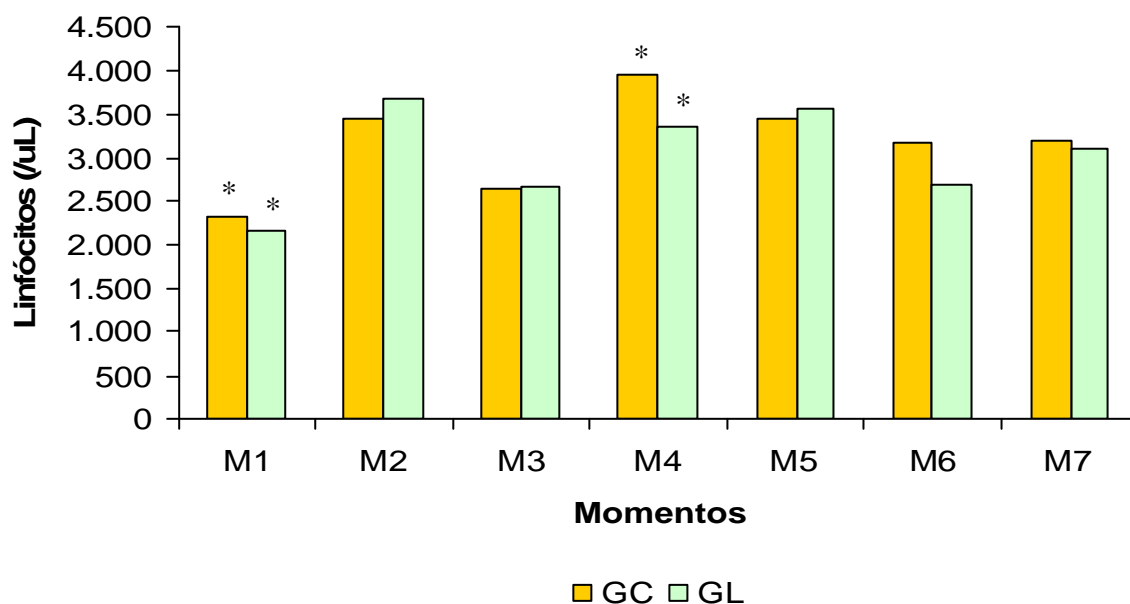
Em relação à diferença entre grupos, não houve significativa diferença estatística ( $p<0,05$ ) em nenhum dos momentos.



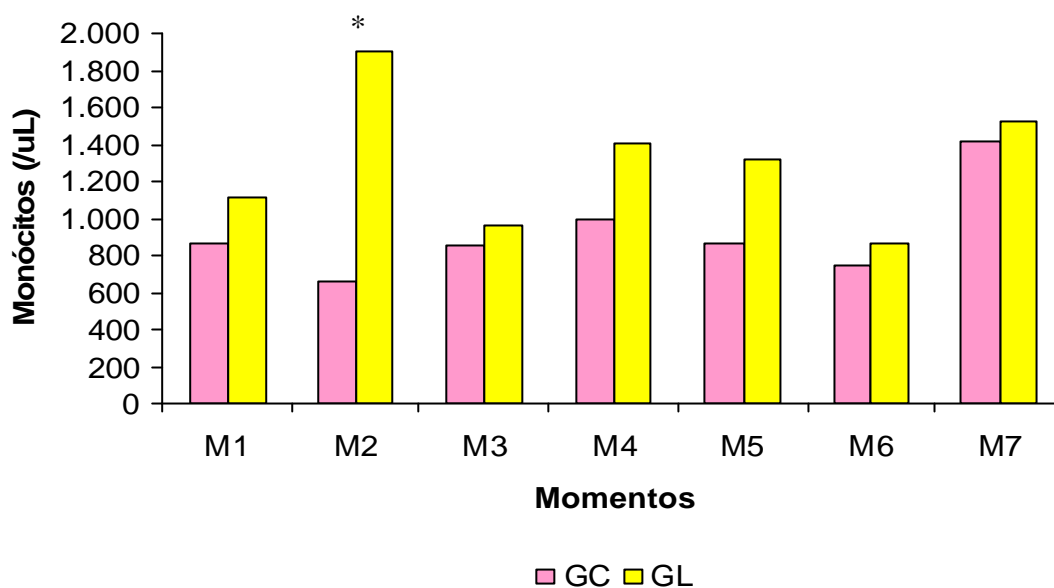
**FIGURA 8** – Evolução das médias do número de leucócitos totais ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ), de neonatos caninos aos 3, 10, 17, 24, 31, 38 e 45 dias de vida, correspondendo respectivamente aos momentos M1 a M7, dos animais do grupo controle (GC) e do grupo luteína (GL).



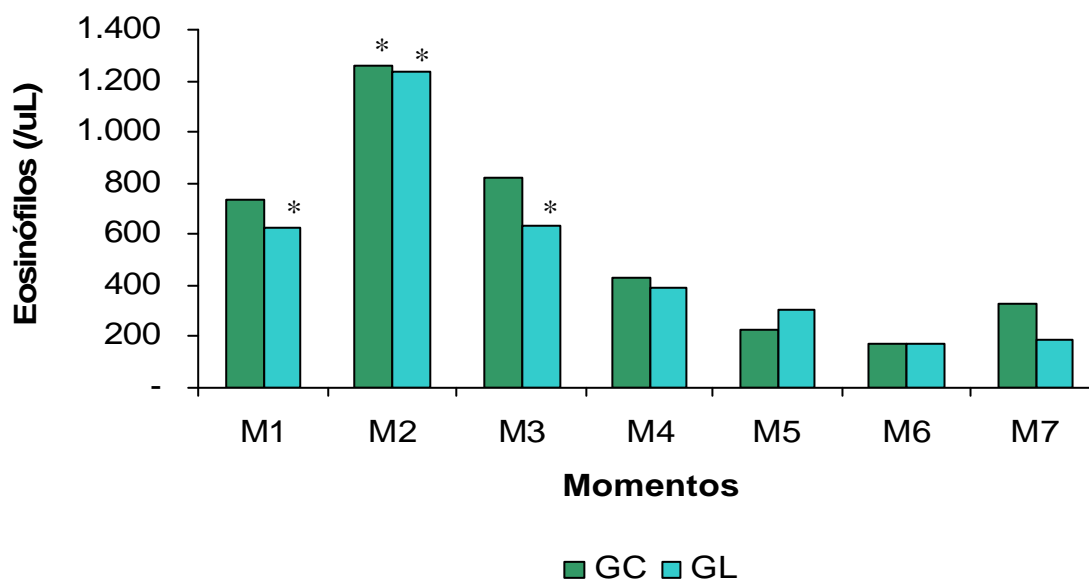
**FIGURA 9** – Evolução das médias do número de neutrófilos ( $\mu\text{L}$ ), de neonatos caninos aos 3, 10, 17, 24, 31, 38 e 45 dias de vida, correspondendo respectivamente aos momentos M1 a M7, dos animais do grupo controle (GC) e do grupo luteína (GL).



**FIGURA 10** – Evolução das médias do número de linfócitos ( $\mu\text{L}$ ), de neonatos caninos aos 3, 10, 17, 24, 31, 38 e 45 dias de vida, correspondendo respectivamente aos momentos M1 a M7, dos animais do grupo controle (GC) e do grupo luteína (GL).



**FIGURA 11** – Evolução das médias do número de monócitos ( $\mu\text{L}$ ), de neonatos caninos aos 3, 10, 17, 24, 31, 38 e 45 dias de vida, correspondendo respectivamente aos momentos M1 a M7, dos animais do grupo controle (GC) e do grupo luteína (GL).



**FIGURA 12** – Evolução das médias do número de eosinófilos ( $\mu\text{L}$ ), de neonatos caninos aos 3, 10, 17, 24, 31, 38 e 45 dias de vida, correspondendo respectivamente aos momentos M1 a M7, dos animais do grupo controle (GC) e do grupo luteína (GL).

**Tabela 2** - Médias e desvio padrão ( $x \pm s$ ) dos valores absolutos do número total de leucócitos, neutrófilos segmentados, linfócitos, monócitos, eosinófilos e basófilos de neonatos caninos aos 3, 10, 17, 24, 31, 38 e 45 dias de vida, correspondendo respectivamente aos momentos M1 a M7, em 10 animais tratados VO, 1x dia, com 20 mg de luteína (grupo luteína).

		Leucócitos ( $\times 10^3/\text{ml}$ )	Neut. Seg. ( $\times 10^3/\text{ml}$ )	Linfócitos ( $\times 10^3/\text{ml}$ )	Monócitos ( $\times 10^3/\text{ml}$ )	Eosinófilos ( $\times 10^3/\text{ml}$ )
<b>M1</b>	<b>GC</b>	8739,5 <sup>Aa</sup> $\pm$ 1812,8	4767,0 <sup>Aa</sup> $\pm$ 1379,8	2339,7 <sup>Aac</sup> $\pm$ 740,3	866,1 <sup>Aa</sup> $\pm$ 510,9	737,2 <sup>Ac</sup> $\pm$ 360,5
	<b>GL</b>	8388,9 <sup>Aac</sup> $\pm$ 1520,1	4465,1 <sup>Aa</sup> $\pm$ 1178,9	2182,0 <sup>Aac</sup> $\pm$ 733,0	1117,0 <sup>Aa</sup> $\pm$ 559,9	617,7 <sup>Ac</sup> $\pm$ 335,2
<b>M2</b>	<b>GC</b>	10169,3 <sup>Aa</sup> $\pm$ 2442,8	4785,8 <sup>Aa</sup> $\pm$ 1502,0	3448,9 <sup>Abc</sup> $\pm$ 941,9	651,7 <sup>Aa</sup> $\pm$ 489,6	1263,3 <sup>Ab</sup> $\pm$ 432,2
	<b>GL</b>	12427,5 <sup>Ab</sup> $\pm$ 4107,9	5591,1 <sup>Aa</sup> $\pm$ 1340,7	3659,6 <sup>Ab</sup> $\pm$ 1588,8	1899,2 <sup>Ba</sup> $\pm$ 1693,1	1233,9 <sup>Ab</sup> $\pm$ 595,3
<b>M3</b>	<b>GC</b>	8831,4 <sup>Aa</sup> $\pm$ 2013,5	4544,7 <sup>Aa</sup> $\pm$ 1201,9	2632,0 <sup>Abc</sup> $\pm$ 992,3	842,6 <sup>Aa</sup> $\pm$ 689,9	812,1 <sup>Ac</sup> $\pm$ 429,6
	<b>GL</b>	9443,5 <sup>Aac</sup> $\pm$ 2261,3	5178,4 <sup>Aa</sup> $\pm$ 1839,7	2672,3 <sup>Abc</sup> $\pm$ 712,4	960,2 <sup>Aa</sup> $\pm$ 667,6	632,6 <sup>Ac</sup> $\pm$ 292,9
<b>M4</b>	<b>GC</b>	11563,1 <sup>Aa</sup> $\pm$ 2639,6	6188,5 <sup>Ba</sup> $\pm$ 1383,8	3957,2 <sup>Ab</sup> $\pm$ 1526,6	992,8 <sup>Aa</sup> $\pm$ 644,3	423,8 <sup>Aa</sup> $\pm$ 301,7
	<b>GL</b>	10051,6 <sup>Abc</sup> $\pm$ 3082,9	4887,1 <sup>Aa</sup> $\pm$ 1259,2	3369,2 <sup>Abc</sup> $\pm$ 1186,5	1402,0 <sup>Aa</sup> $\pm$ 1071,2	385,4 <sup>Aac</sup> $\pm$ 335,0
<b>M5</b>	<b>GC</b>	10058,1 <sup>Aa</sup> $\pm$ 2392,4	5517,3 <sup>Aa</sup> $\pm$ 1900,3	3446,7 <sup>Abc</sup> $\pm$ 1293,4	861,6 <sup>Aa</sup> $\pm$ 512,0	225,9 <sup>Aa</sup> $\pm$ 162,0
	<b>GL</b>	12443,7 <sup>Ab</sup> $\pm$ 3887,8	7208,5 <sup>Ab</sup> $\pm$ 2259,2	3564,7 <sup>Ab</sup> $\pm$ 1089,8	1322,1 <sup>Aa</sup> $\pm$ 1329,3	305,8 <sup>Aac</sup> $\pm$ 299,0
<b>M6</b>	<b>GC</b>	9815,5 <sup>Aa</sup> $\pm$ 2155,8	5729,6 <sup>Ba</sup> $\pm$ 1581,8	3178,1 <sup>Abc</sup> $\pm$ 883,9	739,4 <sup>Aa</sup> $\pm$ 359,5	168,4 <sup>Aa</sup> $\pm$ 161,4
	<b>GL</b>	8241,4 <sup>Aac</sup> $\pm$ 1205,2	4511,5 <sup>Aa</sup> $\pm$ 792,7	2696,9 <sup>Abc</sup> $\pm$ 797,2	861,7 <sup>Aa</sup> $\pm$ 503,4	171,3 <sup>Aa</sup> $\pm$ 134,5
<b>M7</b>	<b>GC</b>	11638,9 <sup>Aa</sup> $\pm$ 3574,5	6660,0 <sup>Aa</sup> $\pm$ 2891,1	3194,2 <sup>Abc</sup> $\pm$ 1196,5	1418,9 <sup>Aa</sup> $\pm$ 1240,3	321,1 <sup>Aa</sup> $\pm$ 253,3
	<b>GL</b>	12093,2 <sup>Ab</sup> $\pm$ 2964,5	7272,8 <sup>Ab</sup> $\pm$ 1419,8	3102,3 <sup>Abc</sup> $\pm$ 1050,6	1529,7 <sup>Aa</sup> $\pm$ 985,9	188,4 <sup>Aa</sup> $\pm$ 86,4

<sup>A</sup> Para letras maiúsculas iguais não há diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os grupos.

<sup>a</sup> Para letras minúsculas iguais não há diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os momentos

### 4.3 Proteinograma

Na tabela 3, demonstraram-se as médias (Figura 13) das proteínas séricas totais. Na análise da diferença entre momentos, tanto no GC quanto no GL, somente o M1 se mostrou diferente e maior que os demais grupos. Para a análise entre grupos, em cada momento, não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

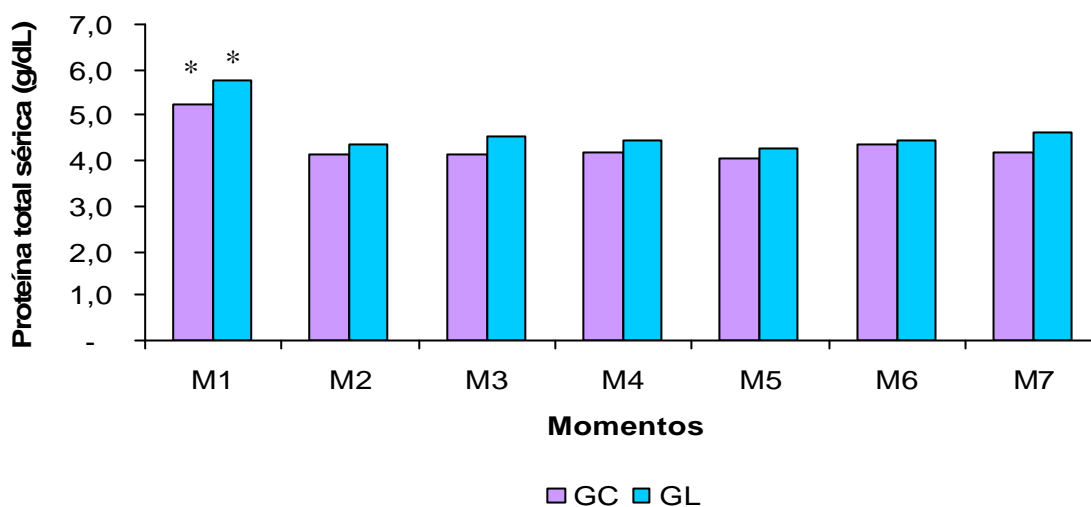
Com a realização da eletroforese, obtiveram-se frações das proteínas totais séricas.

A albumina (Tabela 3, Figura 14) não apresentou significativa diferença estatística ( $p < 0,05$ ) tanto na análise entre momentos quanto na análise entre grupos.

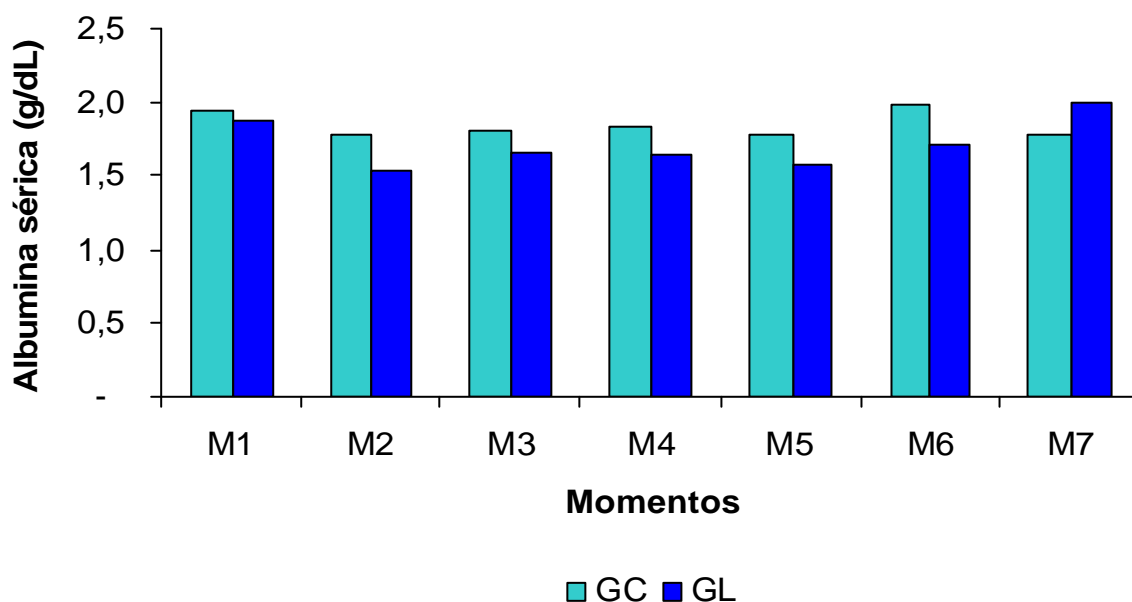
A fração alfa-globulina (Tabela 3; Figura 15), na análise entre momentos do mesmo grupo, não apresentou diferença significativa em nenhum dos grupos. Mas, na análise entre grupos, em cada momento, apresentou, no M4, uma diferença entre os grupo controle e luteína.

Já a fração das beta-globulinas (Tabela 3, Figura 16) mostrou diferenças em sua análise. Na análise estatística, entre momentos, em cada grupo, o GC revelou que os momentos 4, 5, 6 e 7 foram iguais a todos os outros. No entanto M2 e M3 foram diferentes ( $p > 0,05$ ) e menores que M1. No GL, o que ocorreu foi um pouco diferente. Somente o M1 se apresentou diferente e com valor bem superior aos outros momentos.

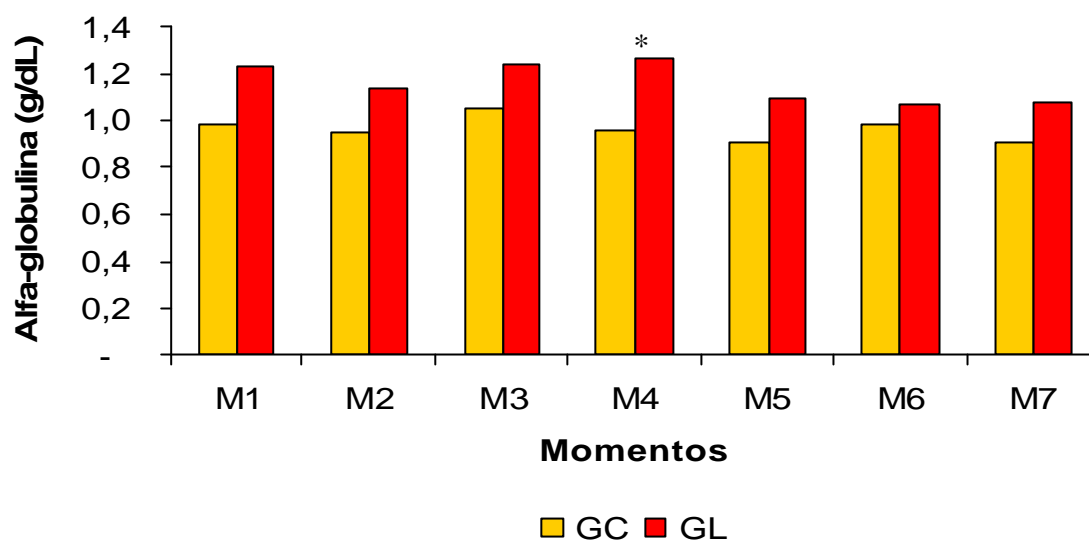
Na fração gama-globulina (Tabela 3, Figura 17), tanto no GC quanto no GL, o M1 (3 dias ) mostrou-se diferente e maior que os demais momentos na análise estatística da diferença de momentos, em cada grupo. No entanto, na análise da diferença dos grupos, em cada momento, somente o M6 (38 dias) do grupo luteína obteve um valor médio diferente e superior ao grupo controle.



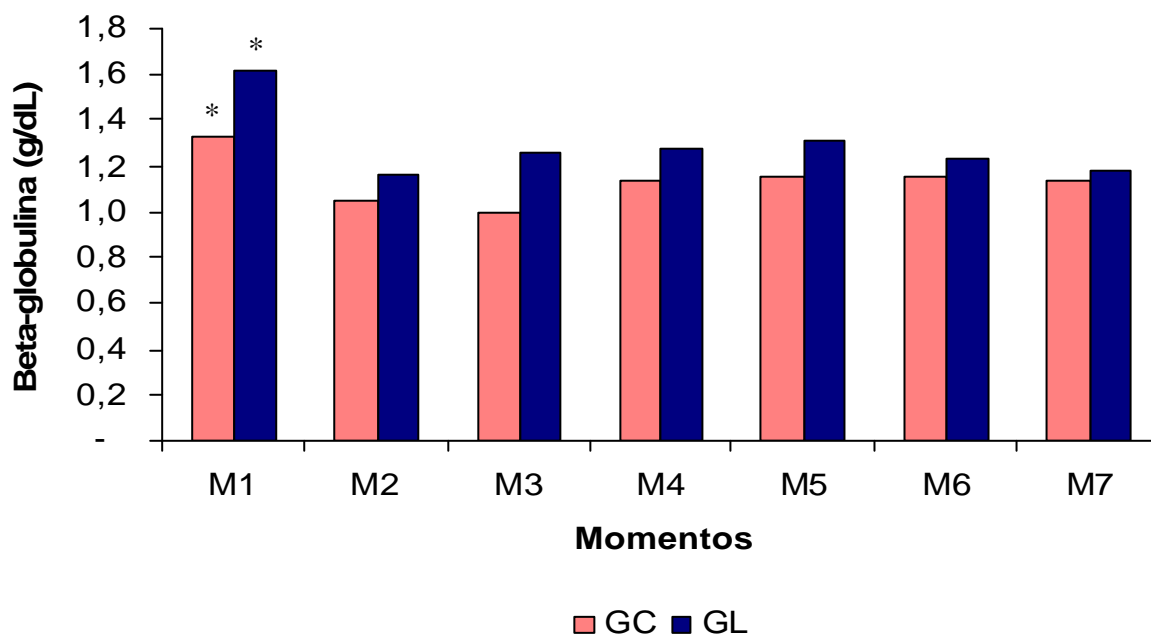
**FIGURA 13** – Evolução das médias da concentração de proteína total sérica – PTs (g/dL), de neonatos caninos aos 3, 10, 17, 24, 31, 38 e 45 dias de vida, correspondendo respectivamente aos momentos M1 a M7, dos animais do grupo controle (GC) e do grupo luteína (GL).



**FIGURA 14** – Evolução das médias da concentração de albumina (g/dL), de neonatos caninos aos 3, 10, 17, 24, 31, 38 e 45 dias de vida, correspondendo respectivamente aos momentos M1 a M7, dos animais do grupo controle (GC) e do grupo luteína (GL).

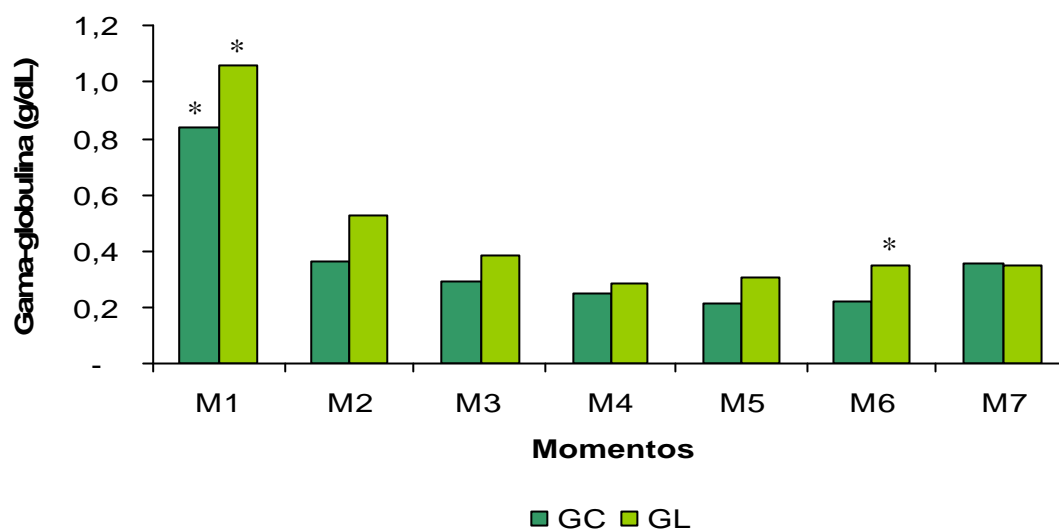


**FIGURA 15** – Evolução das médias da concentração de alfa-globulina (g/dL), de neonatos caninos aos 3, 10, 17, 24, 31, 38 e 45 dias de vida, correspondendo respectivamente aos momentos M1 a M7, dos animais do grupo controle (GC) e do grupo luteína (GL).



**FIGURA 16** – Evolução das médias da concentração de beta-globulina (g/dL), de neonatos caninos aos 3, 10, 17, 24, 31, 38 e 45 dias de vida, correspondendo respectivamente aos momentos M1 a M7, dos animais do grupo controle (GC) e do grupo luteína (GL).





**FIGURA 17** – Evolução das médias da concentração de gama-globulina (g/dL), de neonatos caninos aos 3, 10, 17, 24, 31, 38 e 45 dias de vida, correspondendo respectivamente aos momentos M1 a M7, dos animais do grupo controle (GC) e do grupo luteína (GL).

**Tabela 3** - Médias e desvio padrão ( $\bar{x} \pm s$ ) dos valores absolutos da concentração de proteína total, albumina, alfa, beta e gama-globulina de neonatos caninos aos 3, 10, 17, 24, 31, 38 e 45 dias de vida, correspondendo respectivamente aos momentos M1 a M7, em 10 animais tratados vo, 1x dia, com 20 mg de luteína (grupo luteína).

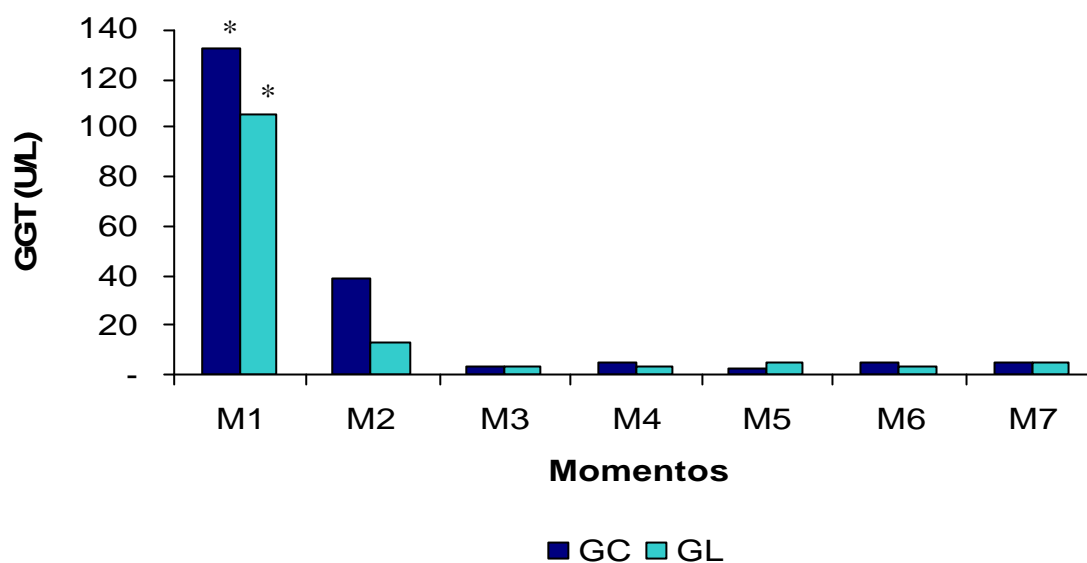
		PTS (g/dL)	Albumina (g/dL)	Globulinas (g/dL)		
				a	b	g
<b>M1</b>	GC	5,22 <sup>Ab</sup> ±0,97	1,90 <sup>Aa</sup> ±0,29	0,99 <sup>Aa</sup> ±0,40	1,33 <sup>Ab</sup> ±0,22	0,84 <sup>Ab</sup> ±0,44
	GL	5,78 <sup>Ab</sup> ±0,83	1,88 <sup>Aa</sup> ±0,42	1,23 <sup>Aa</sup> ±0,24	1,61 <sup>Bb</sup> ±0,35	1,06 <sup>Ab</sup> ±0,51
<b>M2</b>	GC	4,13 <sup>Aa</sup> ±0,51	1,80 <sup>Aa</sup> ±0,20	0,95 <sup>Aa</sup> ±0,12	1,05 <sup>Aac</sup> ±0,11	0,37 <sup>Aa</sup> ±0,17
	GL	4,36 <sup>Aa</sup> ±0,75	1,53 <sup>Aa</sup> ±0,39	1,13 <sup>Aa</sup> ±0,32	1,17 <sup>Aa</sup> ±0,26	0,53 <sup>Aa</sup> ±0,22
<b>M3</b>	GC	4,14 <sup>Aa</sup> ±0,61	1,81 <sup>Aa</sup> ±0,34	1,05 <sup>Aa</sup> ±0,18	1,00 <sup>Aac</sup> ±0,14	0,29 <sup>Aa</sup> ±0,10
	GL	4,54 <sup>Aa</sup> ±0,78	1,66 <sup>Aa</sup> ±0,44	1,21 <sup>Aa</sup> ±0,45	1,26 <sup>Ba</sup> ±0,18	0,39 <sup>Aa</sup> ±0,13
<b>M4</b>	GC	4,19 <sup>Aa</sup> ±0,62	1,82 <sup>Aa</sup> ±0,38	0,96 <sup>Aa</sup> ±0,13	1,13 <sup>Abc</sup> ±0,14	0,25 <sup>Aa</sup> ±0,07
	GL	4,46 <sup>Aa</sup> ±0,77	1,64 <sup>Aa</sup> ±0,37	1,26 <sup>Ba</sup> ±0,40	1,28 <sup>Aa</sup> ±0,28	0,28 <sup>Aa</sup> ±0,11
<b>M5</b>	GC	4,04 <sup>Aa</sup> ±0,49	1,78 <sup>Aa</sup> ±0,34	0,90 <sup>Aa</sup> ±0,14	1,15 <sup>Abc</sup> ±0,15	0,21 <sup>Aa</sup> ±0,08
	GL	4,29 <sup>Aa</sup> ±0,51	1,57 <sup>Aa</sup> ±0,49	1,10 <sup>Aa</sup> ±0,31	1,31 <sup>Ba</sup> ±0,18	0,31 <sup>Aa</sup> ±0,17
<b>M6</b>	GC	4,34 <sup>Aa</sup> ±0,60	1,98 <sup>Aa</sup> ±0,18	0,99 <sup>Aa</sup> ±0,22	1,15 <sup>Abc</sup> ±0,19	0,22 <sup>Aa</sup> ±0,08
	GL	4,44 <sup>Aa</sup> ±0,41	1,71 <sup>Aa</sup> ±0,38	1,07 <sup>Aa</sup> ±0,33	1,23 <sup>Aa</sup> ±0,22	0,35 <sup>Ba</sup> ±0,15
<b>M7</b>	GC	4,17 <sup>Aa</sup> ±0,39	1,78 <sup>Aa</sup> ±0,39	0,91 <sup>Aa</sup> ±0,22	1,13 <sup>Abc</sup> ±0,13	0,36 <sup>Aa</sup> ±0,13
	GL	4,61 <sup>Aa</sup> ±0,74	2,00 <sup>Aa</sup> ±0,47	1,08 <sup>Aa</sup> ±0,35	1,18 <sup>Aa</sup> ±0,23	0,35 <sup>Aa</sup> ±0,13

<sup>A</sup> Para letras maiúsculas iguais não há diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os grupos.

<sup>a</sup> Para letras minúsculas iguais não há diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os momentos

#### 4.4 Gama Glutamilttransferase – GGT

O GGT tem suas médias (Figura 18) demonstradas na tabela 4. Em relação à análise da diferença entre momentos, no GC, apenas o M1 se mostrou diferente estatisticamente e superior aos demais momentos. No GL, ocorreu a mesma situação. Nele a média dos valores de M1 foi mais alta que a de todos os outros momentos. Já na análise realizada entre grupos, nos mesmos momentos, não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ).



**FIGURA 18** – Evolução das médias da concentração de gama glutamiltransferase - GGT (U/L), de neonatos caninos aos 3, 10, 17, 24, 31, 38 e 45 dias de vida, correspondendo respectivamente aos momentos M1 a M7, dos animais do grupo controle (GC) e do grupo luteína (GL).

**Tabela 4** - Médias e desvio padrão ( $\bar{x} \pm s$ ) da atividade da gamaglutamiltransferase de neonatos caninos aos 3, 10, 17, 24, 31, 38 e 45 dias de vida, correspondendo respectivamente aos momentos M1 a M7, em 10 animais tratados vo, 1x dia, com 20 mg de luteína (grupo luteína).

		GGT (g/dL)
<b>M1</b>	GC	132,90 <sup>Ab</sup> ±84,47
	GL	105,89 <sup>Ab</sup> ±75,68
<b>M2</b>	GC	38,70 <sup>Aa</sup> ±67,70
	GL	13,00 <sup>Aa</sup> ±12,40
<b>M3</b>	GC	3,30 <sup>Aa</sup> ±3,37
	GL	4,00 <sup>Aa</sup> ±3,30
<b>M4</b>	GC	4,50 <sup>Aa</sup> ±3,14
	GL	3,40 <sup>Aa</sup> ±2,50
<b>M5</b>	GC	3,13 <sup>Aa</sup> ±1,73
	GL	4,80 <sup>Aa</sup> ±4,10
<b>M6</b>	GC	4,63 <sup>Aa</sup> ±0,92
	GL	3,40 <sup>Aa</sup> ±2,22
<b>M7</b>	GC	4,70 <sup>Aa</sup> ±1,95
	GL	4,20 <sup>Aa</sup> ±2,70

<sup>A</sup> Para letras maiúsculas iguais não há diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os grupos.

<sup>a</sup> Para letras minúsculas iguais não há diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os momentos.

## 5 DISCUSSÃO

### 5.1 A influência da faixa etária

#### 5.1.1 Eritrograma

Existem poucas pesquisas sobre o período neonatal. Por outro lado, a falta de trabalhos sobre os valores de referência para o perfil hematológico e bioquímico sérico (inclusive o proteinograma) dificultou a discussão.

Os valores médios do eritrograma de cães SRD, neonatos, do 3º ao 45º dia, apresentados nesta pesquisa concordam com Meyer *et al.* (1992) e Jain (1993). Aos três dias de vida (M1), os valores do número total de hemácias, concentração da hemoglobina e do volume globular, estavam na faixa de normalidade descrita por Meyer *et al.* (1992) e Jain (1993).

A partir da 2ª semana de vida (10º dia ou M2), ocorreu uma queda nos valores do eritrograma. O decréscimo nesses valores, nos primeiros dias de vida, pode ser denominado “anemia fisiológica” e acomete neonatos de várias espécies. Por isso, é merecedora de estudos de muitos pesquisadores (JAIN, 1986; BIONDO, 1996; KURZ E WILLET, 1991). Essa anemia é, provavelmente, decorrente da hemodiluição ocasionada pela ingestão do colostro, pela deficiência nutricional causada, devido à baixa quantidade de ferro presente no leite materno, e, ainda, pelo rápido crescimento do filhote, que resulta numa expansão do volume plasmático, fato observado na presente pesquisa, e de acordo com os relatos de Jain (1986).

No 3º dia após o nascimento (M1), os valores médios do número total de hemácias, concentração de hemoglobina e volume globular, foram superiores a todos os outros momentos. Aos 10 dias, houve uma queda significativa nos valores hematológicos. No entanto, esses valores encontrados, para a concentração de hemoglobina e volume globular nos cães, aos 10 dias de vida, foram discretamente superiores aos encontrados por Meyer *et al.* (1992).

Comparando-se com os valores preconizados na literatura, aos 17 dias, apenas o GL obteve valor médio do número total de hemácias discretamente inferior aos definidos por Meyer (1992), porém dentro da normalidade para os valores determinados por Jain (1993).

Na 5ª semana de vida ou M6 (38 dias), teve início uma elevação significativa nos parâmetros do eritrograma. Entretanto, na literatura, não há valores de referência para essa idade, em cães, impedindo a comparação. Essa recuperação dos valores do eritrograma, no início do 2º mês foi descrita por Jain em 1993.

Aos 45 dias (M7) ou 6ª semana de vida, as médias do eritrograma foram semelhantes às descritas por Meyer (1992), mas discretamente superiores às encontradas por Jain (1993).

Em todos os momentos avaliados nesta pesquisa (3, 10, 17, 24, 31, 38 e 45 dias), existiram alterações no quadro hematológico, ligadas à influência da faixa etária, devido ao desenvolvimento do recém-nascido, sendo que essas alterações concordam com Jain (1993) e Hoskins (2001).

Os resultados obtidos também concordam com os estudos realizados, com felinos, por Tiedemann & Ooyen em 1978, e que confirmam a idéia de que, nessa

faixa etária, a medula óssea está em pleno desenvolvimento e já assume o papel da hematopoiese, desde o final da gestação.

Além dos argumentos já utilizados para a explicação da “anemia fisiológica”, há outro fato importante, que colabora para que a anemia ocorra. Quando o cão nasce, permanecem em sua circulação, hemácias fetais, que são células maiores que as células adultas e serão rapidamente substituídas nessa fase inicial da vida, (principalmente nas duas primeiras semanas de vida), devido a sua retirada da circulação por meio do Sistema Monocítico Fagocitário (HOSKINS, 2001).

O VCM apresenta-se elevado no 3º dia, devido à grande população de hemácias fetais, conferindo aos animais uma macrocitose, que corrobora com os resultados de Jain (1993) e Feldman (2000), os quais descrevem o VCM entre 90 e 100 fl; e, também, com os encontrados nesta pesquisa. Ao contrário dos outros parâmetros do eritograma, a média dos valores do VCM continuou a diminuir gradativamente, até o M6 (38 dias), quando se estabilizou. Aos 10 dias, os valores médios do VCM desse experimento apresentaram valores superiores aos descritos por Meyer *et al.* (1992).

Segundo Meyer *et al.* (1992), aos 24 dias, os valores do VCM já se apresentaram semelhantes aos do cão adulto, porém o valor médio do VCM, nesta pesquisa, mostrou-se semelhante aos valores médios para cães adultos, apenas aos 31 dias de idade.

Aos 3 dias (M1), o CHCM mostrou valor médio mais baixo que os de Meyer *et al.* (1992) e Jain (1993). No momento seguinte (M2), ocorreu o contrário, de modo

que os valores desse experimento se apresentaram elevados, tornando o valor médio do CHCM superior ao da mesma referência.

Nos momentos seguintes, o CHCM apresentou pequenas variações, todavia com valores médios semelhantes aos preconizados por Meyer (1992), Jain (1993) e Hoskins (2001).

Os momentos de coleta e realização dos hemogramas da literatura consultada foram diferentes dos momentos utilizados neste trabalho. No entanto, a comparação foi realizada, sempre, com os momentos mais próximos. Mesmo assim, esse fato pode ter influenciado as diferenças encontradas.

Além do mais, elas também podem ser atribuídas às variações regionais, manipulações dos neonatos, metodologia utilizada para processamento do material e, até mesmo, o local de venopunção. Essas atribuições foram descritas em um trabalho realizado, em neonatos felinos, por Johnson e Perman, em 1968.

### 5.1.2 Leucograma

O número de leucócitos totais (Tabela 2, Figura 6), aos 3 dias, mostrou-se inferior aos valores de referência para neonatos citados na literatura, segundo Meyer (1992) e Jain (1993).

Os valores médios, no 2º momento (10 dias), apresentaram uma discreta elevação, passando a concordar com as médias encontradas na literatura consultada. A partir da 3ª semana, os valores oscilaram, levemente, entre os momentos, até que,



aos 45 dias, o número total de leucócitos apresentou média superior ao 1º momento (três dias de vida).

Os valores encontrados, no presente trabalho, apresentaram-se no limite inferior aos citados na literatura, como valores de referência descritos por Meyer (1992) e Jain (1993).

O valor absoluto de neutrófilos logo na primeira semana encontrava-se dentro dos padrões para adultos, e em todos os momentos avaliados neste experimento os valores absolutos de neutrófilos, concordavam com Meyer (1992) e Jain (1993).

No que se refere à contagem de linfócitos (Tabela 2, Figura 7), os valores absolutos apresentaram-se inferiores às médias obtidas por Meyer (1992) e Jain (1993). Tais diferenças ocorreram, provavelmente devido a causas fisiológicas e nutricionais, pois, segundo Jain (1993), essas condições podem promover um decréscimo da blastogênese linfocítica.

Para os monócitos, encontraram-se valores dentro dos referidos, na literatura, por Meyer (1992) e Jain (1993), de forma que apenas aos 45 dias de idade, os valores desse trabalho se apresentaram discretamente superiores.

Para os eosinófilos, houve grandes variações durante o período neonatal. Com 10 dias (M2) de vida, obteve-se um valor médio muito superior ao do 1º momento (3 dias). Esse número sofreu uma queda no 3º momento aos 17 dias de vida. Aos 24 dias, os valores médios novamente diminuíram, mantendo-se baixos, até os 45 dias de idade.

Os valores encontrados, para eosinófilos, apresentaram-se sempre de acordo com os preconizados por Meyer (1992) e Jain (1993), com exceção aos 45 dias, que o GL teve valor abaixo do referido por Meyer (1992).

### 5.1.3 Proteinograma

Aos 3 dias de vida, os valores encontrados, nesse trabalho, ficaram muito próximos dos de adultos. Nesse momento, as proteínas estão elevadas, devido à ingestão de colostro, já que durante a gestação, o nível de imunoglobulinas transferidas da mãe para o feto é extremamente baixo (5 a 10%).

Além disso, o fígado, que é o maior responsável pela síntese das proteínas, devido a sua imaturidade, ainda não desenvolveu, totalmente, sua função (POFFENBARGER *et al.*, 1991b).

Aos 3 dias, as imunoglobulinas colostrais ainda estão presentes e inicia-se um processo de catabolização das mesmas, que sofrem um declínio. Este fato confirma os relatos da literatura (HOSKINS, 2001).

No 10<sup>o</sup> (M2) dia, houve uma queda nos valores das proteínas séricas totais, em relação à 1<sup>a</sup> semana, porém, a partir desse momento, estas oscilaram, mantendo-se dentro da faixa de referência para neonatos, embora os trabalhos consultados não avaliassem a dosagem das proteínas séricas totais semanalmente.

Na avaliação do fracionamento eletroforético das proteínas séricas, utilizaram-se apenas 4 frações protéicas: a albumina e as globulinas (alfa, beta e gama).

Alguns trabalhos realizados com cães, sobre eletroforese, revelaram a existência de seis a nove frações e subfrações protéicas (BUENING, 1975; KEAY, 1982; ABATE, 2000).

Outro fato importante é que os valores encontrados, no presente trabalho foram comparados apenas aos valores de cães adultos, já que, em recém-nascidos, não foram encontrados, na literatura, até o presente momento, trabalhos correspondentes. Sendo assim, os valores encontrados foram comparados aos valores para cães adultos e, eventualmente, também com os de animais neonatos de outras espécies.

A primeira fração a ser avaliada foi a albumina, que é a mais proeminente proteína do soro. Em todos os momentos avaliados, os valores dela estavam abaixo dos citados na literatura para cães adultos (BUENING, 1975; KANEKO, 1997; ABATE, 2000).

A fração alfa globulina esteve dentro dos padrões normais para adultos (BUENING, 1975; KANEKO, 1997; ABATE, 2000) em todos os momentos, que igualmente não sofreram variações com a idade.

A fração beta-globulina sofreu variações com a idade. Aos 3 dias (M1) obteve-se o maior valor de todos os momentos. No 2º e 3º momentos (10 e 17 dias, respectivamente), houve uma queda desses valores. Com 24 dias de vida (M5), os valores voltaram a aumentar, estabilizando-se. De acordo com o experimento de Chuang (2001), a banda beta-globulina de animais jovens apresenta valores inferiores aos valores de cães adultos. Isto não foi observado neste trabalho, e, apesar da

variação entre os momentos, os valores mantiveram-se dentro dos de referências para adultos (BUENING, 1975; KANEKO, 1997; ABATE, 2000).

Esse alto valor da fração beta, no 3º dia de vida, deve estar relacionado ao consumo de colostro, composto por lipoproteínas e imunoglobulinas, segundo Kaneko (1997).

A fração gama-globulina apresentou-se elevada aos 3 dias (M1), em função da absorção das imunoglobulinas presentes no colostro, que são responsáveis por garantir a imunidade neonatal. O alto valor, aos 3 dias, descrito nesse trabalho está de acordo com autores que trabalharam com neonatos de outras espécies, como Feitosa (1998), em bezerros; e Barioni (2003), em caprinos; que descreveram fatos muito semelhantes nas respectivas espécies.

No 10º dia, houve uma queda acentuada dessa fração, e esses valores permaneceram estáveis até os 45 dias de vida dos cães. Mesmo após o declínio, os valores da gama-globulina permaneceram dentro dos valores de referência para cães adultos. Tal queda na fração gama-globulina, após o 3º dia, decorre da metabolização das imunoglobulinas maternas e essa fração só passará a ter valores mais altos, quando o organismo do animal der início à produção das suas próprias imunoglobulinas.

#### 5.1.4 Gama Glutamiltransferase

A atividade sérica do GGT sofreu grande influência da idade. Kaneko (1997) descreve que, nas espécies bovina, caprina e canina, a enzima GGT pode ser

---

encontrada, em grandes quantidades, no colostro. Segundo Hoskins (2001), em cães com 1 a 3 dias de idade, a atividade da GGT pode ser encontrada de 20 a 25 vezes maior que nos adultos normais, indicando, portanto, uma associação com a ingestão do colostro. HOSKINS (2001) realizou um estudo com filhotes privados da ingestão do colostro e confirmou que essa enzima era um eficiente indicador de sua absorção. Meyer (1992) também alude a uma alta atividade sérica da enzima GGT em animais amamentados.

Concordando com os achados da literatura, os valores obtidos para GGT, durante essa pesquisa, deixam clara a eficiência dessa enzima, como indicador da absorção do colostro para a espécie canina. No entanto, a média dos valores encontrados, aos três dias de idade, para os neonatos desse experimento, foi muito inferior à dos valores descritos por Hoskins em 2001. Essa diferença se deu, provavelmente, devido à dosagem de o experimento do autor citado ter variado entre o dia zero, ou seja, logo após o nascimento; e quando os níveis de imunoglobulinas ainda estão mais altos. No presente trabalho, a enzima GGT foi dosada no 3º dia de vida. Autores, como Simpson-Morgan & Smeaton (1972), afirmam que o colostro só permanece até 48 horas pós-parto; depois, muda sua composição, transformando-se em leite.

## 5.2 Influência da luteína

### 5.2.1 Eritrograma

A suplementação com luteína influenciou pouco, o eritrograma. Apenas a contagem total de eritrócitos apresentou alguns momentos com diferenças entre os grupos. Os valores encontrados, para os animais do grupo luteína, aos 17 (M3) e aos 38 dias de idade (M6), foram inferiores aos do grupo controle. As outras variáveis do eritrograma, como a concentração de hemoglobina, o volume globular e os índices hematimétricos (VCM e CHCM) não sofreram influência da suplementação com luteína em nenhum momento.

### 5.2.2 Leucograma

Em relação ao leucograma dos neonatos caninos, a suplementação com luteína não influenciou a contagem do número total de leucócitos, bem como o número absoluto de linfócitos e eosinófilos.

Com relação ao número absoluto de neutrófilos, houve diferença entre os grupos, em 2 momentos. Tanto aos 24 (M4) como aos 38 dias (M6), os animais não suplementados apresentaram valores superiores aos do grupo luteína.

Para os monócitos, o número absoluto obtido, aos 10 dias de vida (M2), foi 3 vezes superior à contagem do grupo controle.

O curto período de suplementação, aliado à quantidade de luteína administrada, pode não ter sido suficiente, para que ocorresse alguma alteração importante na contagem dos leucócitos.

### 5.2.3 Proteinograma

As proteínas totais e a albumina não sofreram nenhuma influência da suplementação com luteína.

Na fração alfa-globulina, todos os momentos do grupo suplementado com luteína mantiveram valores superiores aos do grupo controle; no entanto, somente no 24º dia (M4), essa superioridade foi significativa.

Na fração da beta-globulina, assim como ocorreu na fração alfa, os valores do grupo luteína permaneceram superiores aos obtidos nos animais do grupo controle.

Nessas 3 frações protéicas, os animais suplementados com luteína apresentaram, em todos os momentos, valores mais elevados. Contudo os valores antes da suplementação já se apresentavam superiores. Sendo assim, não se pode afirmar que a tendência à superioridade do GL foi resultado apenas do efeito da suplementação.

A fração gama-globulina do proteinograma não sofreu influência da suplementação durante o período neonatal. Segundo Kim (2000) e Massimo (2001), a suplementação da dieta com luteína promove um aumento na produção de anticorpos, tendo um efeito benéfico. Entretanto, na maioria das pesquisas realizadas, os animais foram suplementados após o desafio vacinal.

#### 5.2.4 Gama Glutamiltransferase (GGT)

A suplementação com luteína, nos cães neonatos, não demonstrou efeito sobre a atividade enzimática do Gama GT.



## 6 CONCLUSÕES

De acordo com a avaliação do hemograma, proteinograma e da enzima gama glutamiltransferase de neonatos caninos, do 3º ao 45º dia de idade, suplementados ou não com luteína, nas condições experimentais em que esta pesquisa foi realizada, pode-se concluir que:

1. A idade alterou o eritrograma de neonatos caninos do 3º ao 45º dia de vida, pois os valores de hemácias, hemoglobina e hematócrito estavam altos no início da vida e diminuíram com a idade;
2. Os eritrócitos dos cães diminuíram de tamanho do 3º até o 45º dia de vida, levando a uma progressiva diminuição do VCM;
3. A contagem total de linfócitos apresentou valores dentro da faixa de normalidade para adultos;
4. O número total de eosinófilos aumentou aos 10 dias de vida, quando teve uma diminuição progressiva de seus valores até os 45 dias;
5. As concentrações séricas da proteína total e da fração gama-globulina apresentaram-se elevadas aos 3 dias de vida.
6. O GGT apresenta valores elevados no 3º dia após o nascimento.
7. A atividade sérica da enzima GGT pode ser utilizada como indicador da ingestão de colostro em cães recém-nascidos;
8. A suplementação com luteína não influenciou os valores hematológicos e bioquímicos estudados;
9. São necessários mais estudos sobre os efeitos da utilização da luteína em cães, no período neonatal.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABATE, O. et al. Canine serum protein patterns using high-resolution electrophoresis (HRE). **Vet. J.**, v. 159, p.154-160, 2000.

ALENCAR FILHO, R.A. Exames hematológicos no estado das enfermidades animais. 5. Eletroforese sérica – indicações clínicas. **Biológico**, v.40, p.335-336, 1974.

BANKS, K. L. Host defense in the newborn animal. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.181, p.1053-1056, 1982.

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.** 2003. 156f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

BENDICH, A.; SHAPIRO, S.S. Effect of beta-carotene and canthaxanthin on immune responses of the rat. **J. Nutr.**, v. 116, p.2254-2262, 1986.

BIONDO, A.W. **Hemograma de bovinos (*Bos indicus*) sadios da raça Nelore no primeiro mês de vida, criados no estado de São Paulo:** influência de fatores etários e sexuais. 1996. 76p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

BOYD, J.W. Relationships between acid-base balance, serum composition and colostrum absorption in newborn calves. **Br. Vet. J.**, v.145, p. 249-256, 1989.

BREASILE, J. E. Neurologic and behavioral development in the puppy. **Vet. Clin. North Am.**, v.8, p.31-45, 1978.

BUENING, G.M. Use of serum protein electrophoresis in small animal practice. p.13-16, 1975.

BURRI, B.J. Beta-carotene and human health: a review of current research. **Nutr. Res.**, v.17, p. 547-580, 1997.

BURTON, G.W. Antioxidant action of carotenoids. **J. Nutr.**, v.119, p.109-111, 1989.

BURTON, G.W.; INGOLD, K.U. Beta-carotene: an unusual type of lipid antioxidant. **Science**, v.224, p. 560-573, 1984.

CANFIELD, L.M.; FORAGE, J.W.; VALENZUELA, J.G. Carotenoids as cellular antioxidants. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, v.200, p. 260-265, 1992.

CHAPPUIS, G. Neonatal immunity and immunisation in early age: lessons from veterinary medicine. **Vaccine**, v. 16, p.1468-1472, 1998.

CHEW, B.P. Antioxidant vitamins affect food animal immunity and health. **J. Nutr.**, v. 125, n. 65, p.1804S-1808S, 1995.

CHEW, B.P.; WONG, M.W.; WONG, T.S. Effects of lutein from marigold extract on immunity and growth of tumors in mice. **Anticancer Res.**, v. 16, p. 3689-3694, 1996a.

CHEW, B.P. Importance of antioxidant vitamins in immunity and health in animals. **Anim. Feed Sci. Technol.**, v.59, p. 103-114, 1996b.

CHEW, B.P. et al. The role of dietary lutein in the dog and cat. In: **Recent Canine and Feline Nutrition**. Wilmington: Orange Frazer Press, 1998. p. 547-554. v. 2: IAMS international Nutrition Symposium Proceedings.

CHEW, B.P.; 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.

CURI, P.R. **Metodologia e análise da pesquisa em ciências biológicas**. Botucatu: Tipomic, 1997. 263p.

DESIDERIO, J.V.; TURILLO, L.A.; CAMPBELL, S.G. Serum proteins of normal goats and goats with caseous lymphadenitis. **Am. J. Vet. Res.**, v. 40, p. 400-402, 1979.

Di MASCIO, P.; MURPHY, M.E.; SIES, H. Antioxidant defense systems: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 153, p. 194-200, 1991.

FEITOSA, F.L.F. **Dinâmica do proteinograma e da atividade da gama glutamiltransferase no soro sanguíneo de bezerros desde o nascimento até um ano de idade e de vacas antes e após p parto da raça Holandesa**. 1998. 219f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

FELDMAN, B. F.; ZINKE, J. G; JAIN, N. C. Normal hematology of the dog. In: JAIN, C. **Schalm's veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 2000. p. 1057 – 1063.

FELSBURG, P. J. O sistema imune. In: HOSKINS, J. D. **Pediatria veterinária: cães e gatos até 6 meses de idade**. São Paulo : Manole, 1993. p. 353-359.

GILLETE, D. D.; FILKINS, M. Factors affecting antibody transfer in newborn puppy. **Am. J. Physiol.**, v. 210, p. 410-422, 1966.

HERZ, A.; HOD, I. The albumin/alpha globulin ratio in various physiological states in cattle. **Br. Vet. J.**, v.125, p.326-329, 1969.

HOSKINS, J. D. Nutrition and nutritional problems. In:\_\_\_\_\_. **Veterinary pediatrics, dogs and cats from birth to six months**. Philadelphia: Saunders, 2001. Cap. 21, p. 476-489.

HOSKINS, J. D. The physical examination. In:\_\_\_\_\_. **Veterinary pediatrics, dogs and cats from birth to six months**. Philadelphia: Saunders, 2001. Cap.1, p. 1-7.

HOSKINS, J. D. 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.300-343.

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

JAIN, N. C. Comparative hematology of common domestic animals. In: **Essentials of Veterinary Hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. Cap. 2 , p. 19-53.

JYONOUCHI, H.; SUN, S.; GROSS, M. Effects of carotenoids on in vivo 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.

JYONOUCHI, H. et al. Immunomodulating actions of carotenoids: enhancement of in vivo and in vitro antibody production to T-dependent antigen. **Nutr. Cancer**, v. 21, p. 47-58, 1994.

JOHNSON, K.H.; PERMAN, V. Normal values for jugular blood in cat. **Vet. Med. Small Anim. Clin.**, v. 6474, p. 851-854, 1968.

KANEKO, J. J. Serum proteins and dysproteinemias. In:\_\_\_\_\_. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. San Diego: Academic Press, 1997. Cap.5, p.117-138.

KEAY, G. Serum protein values from clinically normal cats and dogs determined by agarose gel electrophoresis. **Res. Vet. Sci.** , v. 33, p. 343-346, 1982.

KEAY, G.; DOXEY, D.L. Species characteristics of serum proteins demonstrated after agarose gel. **Vet. Res. Commun.**, v.5, p.263-270, 1982a.

KEAY, G.; DOXEY, D.L. A comparison of the serum protein electrophoretic patterns of young and adult animals. **Vet. Res. Commun.**, v.5, p.271-276, 1982b

KIM, H.W. et al. Dietary lutein stimulate response in canine. **Vet. Immunol. Immunopatol.** , v. 74, p.315-327, 2000a.

KIM, H.W. et al. Modulation of humoral and cell-mediated immune responses by dietary lutein in cats. **Vet. Immunol. Immunopathol.** , v. 73, p. 331-341, 2000b.

KRINSKY, N.I. Antioxidant functions of  $\beta$ -carotene. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 7 p. 617-635, 1989.

KURZ, M.M.; WILLETT, L.B. carbohydrate, enzyme, and hematology dynamics in newborn calves. **J. Dairy Sci.**, v. 74, p. 2109-2118, 1991.

LEWIS, R. M.; SMITH, C. A.; GARFIELD, L. Kinetics of antibody synthesis to particulate and soluble antigen in newborn puppies and adult dogs. **Am. J. Vet. Res.**, v. 34, p. 235-240, 1973.

MASSIMO, 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.

MEYER, J.D. et al. **Veterinary Laboratory Medicine: interpretation and Diagnosis.** Philadelphia: W.B. Saunders, 1992. 350p.

McCURNIN, D.M.; POFFENBARGER, E. M. **Small animal physical diagnosis and clinical procedures.** Philadelphia: W.B. Saunders, 1991. 221p.

NAOUM, P. C. **Eletroforese: técnicas e diagnósticos**. São Paulo: Livraria Santos, 1990. 174p.

OPDEBEECK, N. L. Mammary gland immunity. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 181, p. 1057-1060, 1982.

OSBALDISTON, G. W. Serum protein fractions in domestic animals. **Br. Vet. J.**, v.128, p. 386-393, 1972.

PENG, J.; JONES, G. L.; WATSON, K. Stress proteins as biomarkers of oxidative stress: effects of antioxidant supplements. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 28, p. 1598 - 1606, 2000.

PERINO, L.J.; SUTHERLAND, R.L.; WOOLLEN, N.E. Serum  $\delta$ -glutamyltransferase activity and protein concentration at birth and after suckling in calves with adequate and inadequate passive transfer of immunoglobulin G. **Am. J. Vet. Res.**, v. 54, p. 56-59, 1993.

PFEIFFER, N. E. et al. Quantitation of bovine immunoglobulins: comparison of single radial immunodiffusion, zinc sulfate turbidity, serum electrophoresis, and refractometer methods. **Am. J. Vet. Res.**, v.38, p.693-698, 1977.

PINHEIRO, J. G. et al. Valores bioquímicos de bovinos. Eletroforese das proteínas séricas em vacas mestiças. **Com. Tec. PESAGRO**, v.57, p.1-3, 1980.

POFFENBARGER, E. M. et al. Use of adult dog serum as substitute for colostrum in the neonatal dog. **Am. J. Vet. Res.**, v. 52, p. 1221-1124, 1991a.

POFFENBARGER, E. M. et al. Canine neonatology. Part I. Disorders of the neonate. **Compend. Contin. Educ. Prat. Vet.**, v. 13, n. 1, p. 25-37, 1991b.

ROGERS, K. S. The lymphoid system. HOSKINS, J. D. **Veterinary pediatrics: dogs and cats from birth to six months**. Philadelphia: Saunders, 2001. Cap. 15, p. 334-343.

SALMON, H. The mammary gland and neonate mucosal immunity. **Vet. Immunol. Immunopathol.**, v. 72, p. 143-155, 1999.

SAMADIEH, B. et al. Analyse electrophoretique des proteines seriques au cors de la reticuloperitonite traumatique des bovins. **Rev. Méd. Vét.**, v.129, p.101-110, 1978.

SELLON, R. K. et al. Changes in lymphocyte subsets with age in perinatal cats: late gestation through eight weeks. **Vet. Immunol. Immunopathol.**, v. 53, p. 105-113, 1996.

SHIFRINE, M. et al. Response of canine fetuses and neonates to antigenic stimulation. **J. Immunol.**, v. 107 , p. 965-970, 1971.

SIMPSON-MORGAN, M.W.; SMEATON, T.C. The transfer of antibodies by neonates and adults. **Adv. Vet. Sci. Comp. Med.**, v. 16, p. 355-379, 1972.

TAURA, Y. et al. Changes in lymphoproliferation and DTH responses after vaccination immediately before surgery in puppies. **J. Vet. Med. Sci.**, v. 57, p. 899-904, 1995.

TESSMAN, R.K. et al. Use of age and serum  $\delta$ -glutamyltransferase activity to assess passive transfer status in lambs. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**,v. 211, p. 1163-1164, 1997.

THURNHAM, D.I. Carotenoids: function and fallacies. **Nutr. Soc.**, v.53, p.777-787, 1994.

TIEDMANN, K. On the yolk sac of the cat. II. Erithropoietic phases, ultrastructure of aging primitive erythroblast, and blood vessels. **Cell Tissue Res.**, v. 183, p. 71-89, 1977.

TIEDMANN, K.; van OUYEN, B. Prenatalhematopoyesis and blood characteristics of the cat. II. **Anat. Embryol.**, v.153, p. 243-267, 1978.



TIZARD, I. R. **Veterinary immunology**: an introduction. 6.ed. Philadelphia: Saunders, 2000. 482p.

TOMAN, M. et al. Postnatal development of leukocyte subset composition and activity in dogs. **Vet. Immunol. Immunopathol.**, v. 87, p. 321-326, 2002.

WESSELINK, R. et al. Colostrum intake by dairy calves. **N. Z. Vet. J.**, v. 47, p. 31-34, 1999.

YOSHIDA, Y. Levels of serum protein fractions and minerals in dairy cow with traumatic gastritis of various conditions. **Jpn. Vet. Med. Sci.**, v.48, p.1153-1159, 1986.