

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA
GRANDE CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA
RURAL CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

**Efeitos da suplementação com vitamina E sobre a eletrocardiografia e
metabolismos cardíaco e oxidativo em felinos domésticos**

Suelton Lacerda de Oliveira

2016



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA
GRANDE CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA
RURAL CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

**Efeitos da suplementação com vitamina E sobre a eletrocardiografia e
metabolismos cardíaco e oxidativo em felinos domésticos**

Suelton Lacerda de Oliveira
Graduando

Profa. Dra. Rosangela Maria Nunes da Silva
Orientadora

Patos - PB
Outubro - 2016

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSTR

O48e

Oliveira, Suelton Lacerda de

Efeitos da suplementação com vitamina E sobre a eletrocardiografia e metabolismos cardíaco e oxidativo em felinos domésticos / Suelton Lacerda de Oliveira. – Patos, 2016.

44f.: il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2016.

“Orientação: Profa. Dra. Rosangela Maria Nunes da Silva”

Referências.

1. Antioxidante. 2. dL-alfa-tocoferol.. 3. CK-MB. 4. Parâmetros eletrocardiográficos. I. Título.

CDU 612:619

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA
GRANDE CENTRO DE SAUDE E TECNOLOGIA
RURAL CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**SUELTON LACERDA DE OLIVEIRA
Graduando**

Monografia submetida ao Curso de Medicina Veterinária como requisito parcial para obtenção do grau de Médico Veterinário

APROVADA EM/...../.....

MÉDIA: _____

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Rosangela Maria Nunes da Silva
Orientadora

Nota _____

Prof. Dr. Pedro Isidro da Nóbrega Neto
Examinador I

Nota _____

Prof. Dr. Antônio Fernando de Melo Vaz
Examinador II

Nota _____

DEDICATÓRIA

Dedico a todos que contribuíram para a execução desse projeto

Às minhas mães, Suzana e Salete, por não medirem esforços para me dar a melhor educação.

À minha irmã, Suéllen, por sua amizade incondicional.

À minha namorada e companheira de todas as horas, Aline, por todo o apoio durante essa caminhada.

Aos meus Avós, Justo e Tereza, por todos os bons conselhos e exemplos dados.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela saúde e paciência.

Às minhas mães, Suzana e Salete por sempre acreditarem na minha capacidade. Por seu amor incondicional. O esforço de vocês em me educar será infinitamente menor do que o meu em buscar sempre o melhor para a vida de vocês.

À minha irmã, Suéllen, por sempre me mostrar o melhor caminho a ser trilhado, por sua paciência em me ensinar e pelo o amor que transmite a minha vida. E ao seu marido, Daniel, por esta ao lado dela na luta diária por um futuro mais tranquilo.

À Aline, minha futura esposa, pelo seu amor, companheirismo e ajuda na execução deste experimento. E a sua mãe, Bernadete, por sua ajuda durante essa fase da graduação, e sei que será por toda a vida.

Ao meu irmão, Matheus, que da sua maneira, me ajuda sempre que preciso.

Ao meu pai, Fernando, por sempre querer me ensinar a ser um homem melhor.

À minha família, pelo o amor e preocupação com a minha felicidade. Especialmente ao meu tio Stênio, por tudo o que sempre fez por todos nós, um exemplo para mim; às minhas tias, Sônia, Sueli, Suastra, Silvia e Ana, sempre dispostas a me ajudar; aos meus Padrinhos Márcio e Mary, por estarem próximos. Sei que para vocês sou um filho.

Aos meus avós, Justo e Tereza, por serem o maior exemplo de caráter e amor que tenho. A vocês eu nunca poderei agradecer suficientemente por tudo o que fazem por mim. Espero que um dia eu desperte em alguém pelo menos um pouco da admiração que tenho por vocês.

Aos meus amigos, por permitirem que a trajetória durante o curso fosse mais prazerosa e menos cansativa (sem mencionar nomes, pois a todos agradecerei pessoalmente).

Aos amigos e colegas profissionais que contribuíram para a realização deste trabalho de conclusão de curso, sem eles o projeto não teria saído do papel; Charles, Carol, Rodrigo Mendes, Kamila, Felício, Roana, Rômulo Dias, Leonardo Barros, Valbério.

À minha orientadora, Professora Rosangela Maria, por todo o conhecimento passado, e confiança na minha capacidade de executar a que havíamos pretendido.

Aos amigos e familiares que por ventura tenha deixado de citar, vocês representam muito para mim também e fazem parte da minha história.

Aos membros da banca examinadora que aceitaram prontamente o nosso convite Prof. Pedro Isidro e Prof. Fernando Vaz. Para mim são dois dos melhores professores da nossa escola, exemplos de excelentes profissionais, e pelo que tive o prazer de conhecer fora da sala aula, exemplos de pessoas prestativas e de bom coração.

À Universidade Federal de Campina Grande por disponibilizar as suas dependências para realização desse estudo, e por todo o conhecimento adquirido durante a graduação.

E aos felinos que participaram do experimento. A cooperação deles tornou tudo isso possível.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	X
LISTA DE TABELAS	Xi
RESUMO.....	131
ABSTRACT.....	142
1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 Oxidação e radicais livres.....	15
2.2 Marcadores de peroxidação celular	17
2.2.1 Malondialdeído (MDA)	17
2.3 Antioxidantes.....	199
2.3.1 Vitamina E (dL-alfa-tocoferol)	19
2.4 Considerações gerais sobre a hematologia	21
2.5 Bioquímica sérica	21
2.6 Biomarcadores cardíacos	22
2.6.1 Creatinofosfo-quinase isoenzima MB (CK-MB)	22
2.7 Parâmetros fisiológicos e eletrocardiográficos.....	23
3 MATERIAL E MÉTODOS	26
3.1 Local de experimento.....	26
3.2 Animais e delineamento experimental	26
3.3 Variáveis avaliadas	27
3.3.1 Parâmetros fisiológicos.....	27
3.3.2 Parâmetros hematológicos e bioquímicos.....	28
3.3.3 Eletrocardiograma.....	29
3.4 Análise estatística	30

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
4.1 Parâmetros fisiológicos.....	31
4.2 Hemograma	31
4.3 Bioquímica sérica	33
4.4 Eletrocardiograma.....	36
5 CONCLUSÃO.....	37
6 REFERÊNCIAS.....	38

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Reação química entre o MDA e o TBA.....	18
Figura 2: Esquematização das derivações padrão ECG.	25
Figura 3: Vitamina E em suspensão.....	27
Figura 4: Ingestão de vitamina E	27
Figura 5: Aferição da frequência cardíaca	27
Figura 6: Aferição da temperatura corporal	27
Figura 7: Analisador automático hematológico.	29
Figura 8: Aparelho semiautomático de análise bioquímica.	29
Figura 9: Realização do exame eletrocardiográfico.....	30
Figura 10: Traçado eletrocardiográfico.....	30

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1**-Valores médios (X) e desvio padrão (S) da frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR) e temperatura corporal (TC), do grupo controle (GC) formado por M0 e o grupo experimental (GE) representado por M1, M2 e M3, de gatos, sem raça definida, tratados e não tratados com vitamina E, no Hospital Veterinário (HV), da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), município de Patos, Paraíba.....31
- Tabela 2**-Valores médios (X) e desvios-padrão (S) da contagem global de hemácias, concentração de hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), e o índice diferencial do tamanho entre hemácias (RDWc), do grupo controle (GC) formado por M0 e o grupo experimental (GE) representado por M1, M2 e M3, de gatos, sem raça definida, tratados e não tratados com vitamina E, no Hospital Veterinário (HV), da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), município de Patos, Paraíba.....32
- Tabela 3**-Valores médios (X) e desvios-padrão (S) da contagem global de leucócitos, contagem diferencial de neutrófilos segmentados, eosinófilos, basófilos, linfócitos, monócitos e plaquetas do grupo controle (GC) formado por M0 e o grupo experimental (GE) representado por M1, M2 e M3, de gatos, sem raça definida, tratados e não tratados com vitamina E, no Hospital Veterinário (HV), da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), município de Patos, Paraíba.....33
- Tabela 4**-Valores médios (X) e desvios-padrão (S) da alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (FA), ureia, creatinina, proteína total, albumina, globulina, creatinofosfo-quinase isoenzima MB (CK-MB) e malondialdeído (MDA) do grupo controle (GC) formado por M0 e o grupo experimental (GE) representado por M1, M2 e M3, de gatos, sem raça definida, tratados e não tratados com vitamina E, no Hospital Veterinário (HV), da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), município de Patos, Paraíba.....35
- Tabela 5**-Valores médios (X) e desvio padrão (S) de amplitude de onda P, extensão de onda P, intervalo P-R, complexo QRS, amplitude de onda R e amplitude de onda T do grupo controle (GC) formado por M0 e o grupo experimental (GE)

representado por M1, M2 e M3, de gatos, sem raça definida, tratados e não tratados com vitamina E, no Hospital Veterinário (HV), da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), município de Patos, Paraíba.....37

RESUMO

OLIVEIRA, SUELTON LACERDA. Efeitos da suplementação com vitamina E sobre a eletrocardiografia e metabolismos cardíaco e oxidativo em felinos domésticos. Patos, UFCG. 2016. 44p (Trabalho de conclusão de curso de Medicina Veterinária, Fisiologia Animal).

Objetivou-se com a pesquisa investigar a eficiência antioxidante da vitamina E (dL-alfa-tocoferol), suplementada por via oral, sobre os parâmetros fisiológicos, hematológicos, bioquímico sérico, eletrocardiografia, metabolismo cardíaco e oxidativo em felinos adultos, sem raça definida. Utilizou-se 16 gatos, clinicamente saudáveis, distribuídos em dois grupos de igual número: um composto por animais controle (GC); e outro por animais suplementados com vitamina E, na dose de 40 UI/kg dia, compondo o grupo experimental (GE). O experimento teve duração de 60 dias; os 15 primeiros denominados de período pré-experimental, no qual os animais foram vermifugados, receberam ração comercial balanceada e água à vontade. No 15º foi realizada a primeira coleta de dados; denominou-se de M0, o qual forneceu os valores referenciais, formando o GC. Posteriormente, iniciou-se os 45 dias de suplementação de vitamina E, avaliada através da coleta de dados periódicos, em intervalos de 15 dias, formando os momentos do GE, respectivamente, M1, M2 e M3. Avaliou-se os parâmetros fisiológicos, frequências cardíaca (FC) e respiratória (FR) e temperatura corporal (TC). Além de hemograma, bioquímica sérica e eletrocardiografia. Os dados foram submetidos a análise de variância para “K” amostras independentes paramétricas ou não paramétricas e análise descritiva ($p \leq 0,05$). Observou-se leucocitose no M3 e discreto aumento de ALT em M2; diferença estatística significativa entre M0 quando comparado a M1 e M2 para variável PPT e de M0 em relação a M2 para globulinas. Na eletrocardiografia, os gatos avaliados apresentaram valores na faixa de normalidade para a espécie, não sendo constatada diferença estatística significativa entre nenhum dos grupos experimentais. Em relação a creatinoquinase isoenzima MB (CK-MB) foi observada diferença estatística significativa no M0 em relação ao M1 e ao M3. Não foi observada diferença estatística significativa entre os grupos em relação aos valores de malondialdeído (MDA); apesar disso, observou-se diminuição dos valores médios de M1 e M2 em relação ao M0. Conclui-se que a suplementação de vitamina E em felinos confinados não influencia os parâmetros sanguíneos, fisiológicos e eletrocardiográficos. Aumenta a concentração de γ -globulinas e a CK-MB como marcador cardíaco é importante para estimar-se sua capacidade antioxidante.

Palavras-chave: antioxidante, dL-alfa-tocoferol, CK-MB, parâmetros eletrocardiográficos

ABSTRACT

OLIVEIRA, SUELTON LACERDA. Effects of supplementation with vitamin E on electrocardiography, cardiac oxidative metabolism and in domestic cats.. Patos, UFCG. 2016. 44p (Conclusion of Course in Veterinary Medicine, Animal physiology).

The objective of the research was to investigate the antioxidant efficiency of vitamin E (dL-alpha-tocopherol), supplemented orally, on the following parameters: physiological, hematological, serum biochemistry, electrocardiography, cardiac metabolism and oxidative in adult cats without breed. Was used 16 cats, clinically healthy, divided into two equal groups: one consisting of control animals (GC); and another by animals supplemented with vitamin E at a dose of 40 UI/kg day, forming the experimental group (GE). The experiment lasted 60 days; the first 15 called pre-experimental period, in which the animals were dewormed, received balanced commercial diet and water ad libitum. On the day 15 the first data collection was carried out; it was named M0, which provided the reference values, forming the GC. Posteriorly, began the 45 days of vitamin E supplementation, evaluated by collecting periodic data, at 15 days intervals, forming GE moments, respectively M1, M2 and M3. Was evaluated the physiological parameters, heart rates (FC) and respiratory rate (FR) and body temperature (TC). It was held hemogram, serum biochemistry, and electrocardiography. Data were subjected to analysis of variance for "K" independent parametric or non-parametric samples and descriptive analysis ($p \leq 0.05$). It was observed leukocytosis at M3 and a slight increase in ALT at M2; there was a statistically significant difference between M0 compared to M1 and M2 for PPT variable and M0 to M2 in relation to globulins. In electrocardiography, cats tested showed values in the normal range for the species not being observed statistically significant difference between any of the experimental groups. Regarding creatine kinase isoenzyme MB (CK-MB) was statistically significant difference in M0 compared to M1 and M3. There was no statistically significant difference between the groups in relation to malondialdehyde values (MDA); nevertheless was observed a decrease in the average values of M1 and M2 in relation to M0. It is concluded that vitamin E supplementation in confined cats had no influence on blood, physiological and neither electrocardiographic parameters. Increasing the concentration of γ -globulins. The use of CK-MB as cardiac marker is important to evaluate the antioxidant capacity of vitamin E.

Keywords: antioxidant, dL-alpha tocopherol, CK-MB, ECG parameters

1 INTRODUÇÃO

2
3 Com a evolução dos estudos nutricionais e de bem estar direcionados aos animais
4 pet, caninos e felinos estão sendo criados mais criteriosamente no que diz respeito ao
5 manejo ambiental e alimentar, passando a ocupar um espaço de importância nos lares, em
6 especial pela capacidade de transmitir afeto e companheirismo, e, sobretudo, na inserção
7 dos mesmos em ambientes para idosos e crianças enfermas e/ou em lares comunitários,
8 demonstrando cada vez mais a importância da zooterapia.

9 Por conseguinte, a longevidade desses animais favorece o desenvolvimento de
10 doenças associadas a sua idade, entre elas, as afecções degenerativas e àquelas
11 correlacionadas ao envelhecimento. Pesquisadores, então, estudaram e identificaram os
12 alimentos como um dos fatores a ser explorado mais intensamente, e que poderia auxiliar
13 na integridade de membranas celulares e órgãos, mantendo a saúde e qualidade de vida dos
14 animais de companhia. Assim, a dieta passou a ter caráter terapêutico preventivo e
15 corretivo de desequilíbrios homeostáticos, modificando o conceito anterior, onde os
16 alimentos tinham apenas a função de nutrir e fornecer energia.

17 Antioxidantes são compostos capazes de prevenir e auxiliar no tratamento de
18 doenças, através dos seus mecanismos de neutralização dos radicais livres. Estes são os
19 principais responsáveis por provocar oxidação das membranas celulares, danos no ácido
20 desoxirribonucleico (DNA), além dos seus produtos, oriundos da peroxidação lipídica e
21 protéica, apresentarem capacidade mutagênica, assim como colaboraram com a progressão
22 de processos carcinogênicos (VALKO et al., 2007). O organismo animal sintetiza
23 antioxidantes e aqueles que não são produzidos deverão ser suplementados na dieta.

24 A vitamina E é o antioxidante mais amplamente distribuído na natureza e com maior
25 atividade biológica. Após absorção na mucosa intestinal, é distribuída para todos os tecidos
26 corpóreos, sendo capaz de estimular o sistema imune, assim como retardar o
27 envelhecimento orgânico.

28 Embora se registre vantagens com o uso da vitamina E, é importante considerar as
29 concentrações desse composto na dieta basal, idade dos animais, bem como a evidência de
30 ambiente estressante que elicie doenças. Diante do exposto e observando inúmeros
31 trabalhos com suplementação desse composto nas várias espécies animais, porém escassez
32 de estudos na espécie felina, objetivou-se com a pesquisa investigar a ação da vitamina E
33 (dL-alfa-tocoferol), suplementada por via oral, sobre os parâmetros fisiológicos,
34 hematológicos, bioquímicos e eletrocardiográficos, assim como, a partir das concentrações

1 de marcadores cardíaco e de lipoperoxidação em felinos adultos, sem raça definida.

2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48

2 REVISÃO DE LITERATURA

A expressividade das populações de cães e gatos, quando comparados com o contingente de pessoas de determinadas localidades, é significativa. No Brasil, de acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), no último censo, realizado em 2013, existe uma população de 52 milhões de cães e 22 milhões de gatos domiciliados. O número de cães chega a superar o número de crianças, que foi 44,9 milhões, na faixa etária até 14 anos de idade.

São escassas as informações sobre expectativa de vida de cães e gatos. Trapp et al. (2010) observaram no seu estudo que do total de cães atendidos, entre 2005 e 2008, na rotina do Hospital Veterinário da Universidade do Oeste do Paraná (UNOPAR), Arapongá – PR, 10,6% foram a óbito ou foram eutanasiados, valor que em gatos foi de 8,92%, em atendimentos realizados no período de 2005 a 2009. Canatto et al. (2012) obtiveram a média da faixa etária dos cães e gatos que vieram a óbito, sendo de 4,99 e 6,89 anos, respectivamente.

Porém, a literatura científica afirma que o organismo animal produz e desempenha importante função na preservação das células e aumento de longevidade; são os designados antioxidantes, os quais previnem, combatem ou reparam distúrbios fisiológicos decorrentes da produção excessiva de espécies reativas do oxigênio. A nicotinamida-adenina-dinucleótido fosfato-oxidase - NADPH oxidase (NOX), produzida durante os processos inflamatórios e infecciosos, é o fator de maior importância sobre a liberação de radicais livres (BABIOR, 2004)

Para se protegerem contra oxidações, os organismos animais dispõem de mecanismos antioxidantes, podendo agir de maneira preventiva, removendo os radicais livres, e proporcionando reparação celular (PIERCE; CACKLER; ARNETT, 2004).

2.1 Oxidação e radicais livres

O oxigênio (O_2) é essencial no metabolismo celular e para produção de energia (HIRATA; SATO, 2004). De acordo com Barbosa et al. (2010) as mitocôndrias são responsáveis por 85% a 90% do consumo de O_2 , e este participa da cadeia transportadora de elétrons nas mitocôndrias para que haja produção de adenosina trifosfato (ATP). De 10% a 15% das moléculas de O_2 irão ser utilizados por enzimas, como também em reações químicas de oxidação direta.

Na mitocôndria o O_2 irá passar por um processo de redução de quatro elétrons, tendo

1 como produto duas moléculas de água. Quem catalisa essa reação é a enzima citocromo
2 oxidase. Contudo, 2% a 5% do oxigênio (O_2) metabolizado na mitocôndria não segue a via
3 metabólica citada acima; sofrem redução univalente, enquanto que na catalisação feita pelo
4 citocromo ocorre redução tetravalente, formando assim radicais livres (BARBOSA et al.,
5 2010).

6 Os radicais livres são átomos que tem seus elétrons distribuídos de forma não
7 pareada, característica que lhes confere significativa instabilidade. Além de instáveis, os
8 radicais livres também são consideravelmente reativos e buscam de forma constante ganhar
9 ou perder elétrons na sua relação com outras moléculas, para assim, se tornarem estáveis.
10 Os dois principais tipos de radicais livres são as espécies reativas de oxigênio (ERO) e as
11 de nitrogênio (PIERCE; CACKLER; ARNETT, 2004).

12 As ERO tem sua produção constante, pois são oriundas das reações metabólicas do
13 organismo. Normalmente é resultado do metabolismo aeróbico, produto da degradação do
14 O_2 (JACKSON et al., 2005). Segundo Ochsendorf (1999) fatores como radiação, irradiação
15 solar, respostas inflamatórias sistêmicas, septicemias, aumento do metabolismo celular,
16 ativação de oxidases e oxigenases, bioativação de xenobióticos, distúrbios endógenos
17 liberadores de elétrons, descompartimentalização de íons metais de transição e perda da
18 capacidade antioxidante podem determinar aumento na produção de ERO, quadro definido
19 como estresse oxidativo.

20 Lobo; Phatak; Chandra (2010) afirmaram que, no interior do organismo, os radicais
21 livres são produzidos fisiologicamente pelo metabolismo da mitocôndria, através de
22 peroxissomas, xantina oxidase, pelos processos de inflamação e fagocitose.

23 A nicotinamida-adenina-dinucleótido fosfato-oxidase - NADPH oxidase (NOX),
24 citada anteriormente, como principal responsável pela maior produção de radicais livres,
25 durante os processos infecciosos e inflamatórios, está presente nas membranas
26 citoplasmáticas em algumas das células de defesa, como macrófagos e neutrófilos, sendo
27 definido como um conjunto de enzimas. No momento da ativação do fagócito este
28 conjunto de enzimas sofre um reajuste estrutural, devido a interações iônicas com as suas
29 proteínas, fato este determinado como explosão respiratória (BABIOR, 2004).

30 Os radicais superóxido ($-O_2$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e os radicais de
31 hidroxila ($-OH$) são os principais tipos de ERO. O H_2O_2 é resultante da catabolização de
32 duas moléculas de O_2 pela enzima superóxido dismutase, e serve como substrato para
33 formação de compostos bactericidas através da ação da mieloperoxidase, (van der VEEN et

1 al., 2009).

2 As ERO possuem alta reatividade e capacidade de provocar danos celulares severos a
3 lipídeos de membrana celular, proteínas e ácidos nucleicos (NGO et al., 2009). Conforme
4 descrito por Craft et al. (2012), os principais alvos dos radicais livres reativos de oxigênio e
5 nitrogênio são proteínas, ácido desoxirribonucleico (DNA), ácido ribonucleico (RNA),
6 moléculas de açúcares e de lipídeos.

7 Valko et al. (2007) ressaltou que a fonte de radicais pelos fagócitos destrói células
8 que estão infectadas por bactérias ou vírus. Neste mecanismo de destruição podem ser
9 produzidos óxido nítrico, H_2O_2 e ânion superóxido. Neste contexto, os radicais livres,
10 desempenham uma função importante no organismo, colaborando na resposta imunitária
11 primária.

12 As células, em suas condições fisiológicas adequadas, possuem mecanismos
13 enzimáticos e não enzimáticos de eliminação de radicais livres que limitam a quantidade de
14 ERO, além de proporcionar reparação celular. Há um equilíbrio entre a produção de ERO e
15 neutralização pelos antioxidantes; esta relação é delicada e, havendo produção exacerbada
16 de radicais livres as células começam a sofrer danos, processo denominado de estresse
17 oxidativo (WIERNSPERGER, 2003).

18 **2.2 Marcadores de peroxidação celular**

19 As ERO atuam modificando estruturas de lipídeos, proteínas, carboidratos e ácidos
20 nucleicos, e os produtos dessas reações servem como marcadores de peroxidação, isto,
21 devido ao fato de terem uma meia vida no organismo animal que varia de horas a semanas,
22 a qual possibilita sua detecção (LOCATELLI et al., 2003).

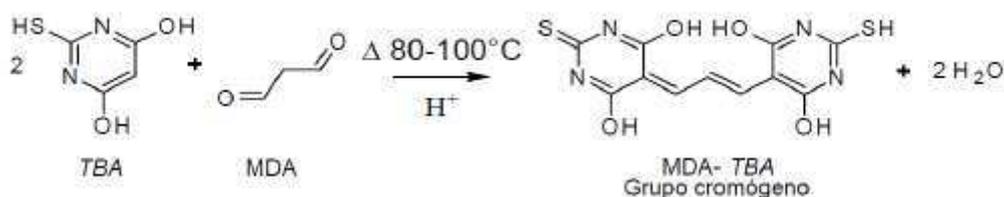
23 **2.2.1 Malondialdeído (MDA)**

24 Dentre os marcadores de peroxidação celular existe o malondialdeído (MDA), que é
25 um aldeído de cadeia curta, o qual é formado a partir da decomposição dos hidroperóxidos
26 lipídicos. Mensura-se a sua concentração para estimar a intensidade da peroxidação
27 lipídica em sistemas biológicos, em células e tecidos, por ele ser o produto final da reação
28 (ESTERBAUER; SCHAUR; ZOLLNER, 1991; MAFRA et al., 1999).

29 Os marcadores de peroxidação lipídica podem ser classificados em primários e
30 secundários. Os primários são hidroperóxidos lipídicos; enquanto os secundários são
31 derivados da β -ruptura desses hidroperóxidos lipídicos (LECHLEITNER et al., 2000)

32 Assim, o MDA é um marcador de peroxidação lipídica secundário, uma vez que é

1 derivado da β -ruptura de endociclicação de ácidos polinsaturados peroxidados, como os
 2 ácidos araquidônico, linoleico e docosahexaenóico (LIMA; ABDALLA, 2001;
 3 HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015). Tem como características físico-químicas:
 4 volatilidade, baixo peso molecular ($C_3H_4O_2$; PM = 72,02) e pKa 4,46. Com um pH ácido
 5 e sobre aquecimento ($80^\circ C$ a $100^\circ C$) o MDA interage e forma reações com agentes
 6 nucleofílicos, produzindo, a partir dessa, cromógenos, que tem alta absorvidade molar no
 7 espectro visível. Existe durante este processo a condensação com ácido tiobarbitúrico
 8 (TBA), que permite a formação de um produto róseo MDATBA, em uma proporção de 1:2
 9 respectivamente, podendo ser monitorada por absorção no espectro visível (Figura 1)
 10 (LIMA; ABDALA, 2001).



11
 12 **Figura 1:** Reação química entre o MDA e o TBA

13 Fonte: Ferreira (2012)

14
 15 O teste do TBA apresenta algumas limitações, necessitando de cautela na
 16 interpretação dos resultados obtidos para os valores de MDA. Apesar de este último se
 17 formar unicamente a partir de ácidos graxos, outros compostos de oxidação de lipídeos
 18 também reagem com o TBA, como os 2,4-alcadienais, os 2-alcenais e o 4-hidroxicenais,
 19 produzindo cromógenos iguais ao da reação MDATBA. Por esse motivo essa reação é
 20 denominada na maioria das vezes como substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
 21 (BERSET; CUVELIER, 1996). Outros compostos como o e.g. acetaldeído e produtos da
 22 reação de Mailard, que não são aldeídos oriundos na peroxidação de lipídeos, também
 23 podem reagir com o TBA, isso só tende a acontecer quando o teor de MDA é baixo. Ainda
 24 existe reação com o TBA por parte da sacarose e glicose. Desta maneira as substâncias
 25 reativas ao ácido barbitúrico, supracitadas, podem sobrestimar os valores de oxidação
 26 celular, uma que não só o MDA é responsável pelo desencadeamento da reação com esse
 27 ácido (WONG; HASHIMOTO; SHIBAMOTO, 1995; BERSET; CUVELIER, 1996).

28
 29

1 **2.3 Antioxidantes**

2 O organismo animal possui um sistema de defesa que tem por objetivo inibir ou
3 reduzir o desgaste celular provocado pelos radicais livres. Há uma série desses compostos,
4 que podem ser adquiridos na dieta, como também ter sua origem proveniente do próprio
5 organismo. A forma de interação dos antioxidantes pode servir de diferencial para sua
6 classificação; desta maneira tem-se aqueles que impedem a formação de radicais livres
7 (preventivos), os que impedem a ação deletéria dos radicais livres (varredores), e ainda os
8 que auxiliam na reorganização e reconstrução das membranas celulares como remoção dos
9 danos nas moléculas de ácido dextrorribonucleico - DNA (reparadores) (ALDERTON;
10 COOPER; KNOWLES, 2001).

11 Dentre os antioxidantes não enzimáticos que podem agir também na reparação da
12 lesão ocorrida, anulando o radical depois de o mesmo ter sido formado, cita-se as
13 vitaminas A, carotenóides, vitamina C (ácido ascórbico) e vitamina E (dL-alfa-tocoferol,
14 que é a sua forma mais ativa), flavonóides, transferrina, bilirrubina, urato, ubiquinonas
15 (coenzima Q), ácido lipóico e diferentes compostos de selênio (SILVA et al., 2010). Tais
16 moléculas irão formar ligações com os radicais livres, doando elétrons para estes, inibindo
17 assim, a oxidação provocada por estes compostos. As vitaminas A e E tem características
18 de lipossolubilidade e se localizam na membrana celular, e a vitamina C é hidrossolúvel e
19 age no citosol (REGULSKI; TULLY, 1995).

20 Os antioxidantes presentes na dieta são representados pelas vitaminas A, E e C;
21 desempenha importantes funções de remoção de danos e reconstituição as membranas
22 celulares das moléculas de DNA. Caratenóides e os flavanódes também fazem partes
23 desses compostos encontrados na dieta. O organismo pode aumentar a produção dessas
24 substâncias em combate ao aumento da incidência de danos a membrana celular (LIEW;
25 WEI; PROUDFOOT, 1997).

26 **2.3.1 Vitamina E (dL-alfa-tocoferol)**

27 A vitamina E, que existe em várias formas, mas tem como mais ativa e disponível no
28 organismo animal a dL-alfa-tocoferol, de acordo com Brigelius-Flohé; Traber (1999); e
29 Brunetto et al. (2007) é o principal antioxidante proveniente da dieta; esta possui a
30 capacidade de estimular o sistema imune, assim como retardar o envelhecimento orgânico.
31 Ela pode ser encontrada principalmente em alimentos vegetais, como: óleos de girassol,
32 canola, cártamo, azeite; em nozes e sementes; e ainda em legumes e verduras, porém me

1 menor quantidade (FISBERG et al., 2013). Conforme descrito por Finch; Turner (1996), na
2 primeira linha de defesa do sistema antioxidante que promove o combate a peroxidação
3 fosfolipídica está a vitamina E, atuando sobre as membranas celulares e subcelulares.

4 A vitamina E é lipossolúvel, esta presente no plasma, com ação antioxidante nas
5 membranas dos eritrócitos e leucócitos, tecidos hepático, cardíaco e outros tecidos
6 orgânicos; rompe reações em cadeia nos estágios iniciais de lipoperoxidação, controla a
7 biosíntese de prostaglandinas e a produção de heme nos eritrócitos, mantém a integridade
8 da membrana dos vasos sanguíneos capilares, inibe a agregação plaquetária, previne a
9 distrofia muscular nutricional e encefalomalácia e influencia o *status* reprodutivo dos
10 animais, protegendo as células de estresse oxidativo e de danos da membrana e do DNA
11 (SIKKA, 2004; NRC, 2006).

12 A suplementação de dL-alfa-tocoferol demonstra aumento do potencial imunológico
13 (RADOSTITS; GAY; BLOOD, 2002). De acordo com Hogan et al. (1990), há evidências
14 de que a oferta insuficiente de vitamina E promove uma diminuição da capacidade
15 imunológica.

16 A quantidade de vitamina E presente no organismo animal irá depender de fatores
17 como quantidade de ácidos graxos presentes na dieta, número de radicais livres agindo
18 sobre os tecidos, taxas de selênio, dentre outros números de compostos dietéticos (NRC,
19 2006).

20 A Association of American Food Control Officials (AAFCO), órgão que normatiza o
21 consumo de ração nos Estados Unidos da América, haja vista que não se tem orientação
22 definida pelo Ministério da Agricultura no Brasil, recomenda o fornecimento de 30 UI de
23 dL-alfa-tocoferol por quilograma de alimento (UI/kg) para felinos (AAFCO, 2010).

24 Heaton et al. (2002) afirmaram que em cães uma suplementação de 50 UI/kg é
25 suficiente para que esses animais apresentem aumento nas concentrações de vitamina E e
26 taurina séricas, fato este relacionado ao menor dano sofrido pela molécula de DNA, melhor
27 reposta vacinal, assim como potencialização da atividade antioxidante no plasma
28 sanguíneo.

29 A vitamina E pode ser suplementada pelas vias intramuscular, intraperitoneal e oral.
30 Quando utilizada, a suplementação pela via oral deverá consistir em doses de até 40 UI/kg
31 de peso corpóreo; essa dose é recomendada para se fazer correções de deficiência
32 (BRANSON; ADAMS, 2003). Os estudos que abordam a suplementação de vitamina E
33 por via oral, em cães e gatos, são escassos, entretanto seu uso é recomendado, uma vez que

1 pode auxiliar no tratamento de doenças dermatológicas e hepatobiliares (VANDEWEERD;
2 CAMBIER; GUSTIN, 2013). Existe uma possível melhora em pacientes com doença
3 inflamatória hepática após a suplementação com vitamina E, observada através do aumento
4 da quantidade sérica e hepática desse antioxidante (TWEDT; WEBB; TETRICK, 2003).

5 **2.4 Considerações gerais sobre a hematologia**

6 Torrance (2000) ressaltou a importância da avaliação hematológica para a clínica
7 médica de cães e gatos, tendo o hemograma capacidade de revelar e indicar estágio de
8 desenvolvimento de alterações orgânicas. A importância do hemograma está relacionada a
9 rápida coleta e processamento das amostras de sangue, assim como o seu baixo custo, além
10 de ter a capacidade de avaliar três séries celulares periféricas; eritrócitos, leucócitos e
11 plaquetas (LOPES; BIONDO; SANTOS, 2007).

12 Os intervalos de referência para as variáveis hematológicas em cães e gatos devem
13 ser adotados de acordo com os fornecidos pela literatura, o que não impede que cada
14 laboratório adote os intervalos específicos que são disponibilizados junto aos equipamentos
15 utilizados (ZABOLOTZKY; WALKER, 2014).

16 O hemograma em felinos pode revelar quadros de anemias, que tem ocorrência
17 comum nesta espécie, estando relacionado com o tempo de vida dos eritrócitos e com o
18 volume de sangue desses animais (KOHN, 2015). Assim como permite investigar
19 leucocitoses e leucopenias, e suas possíveis causas, como um leucograma de estresse, por
20 exemplo. A série plaquetária também é avaliada, podendo-se observar alterações como
21 trombocitopenias, provocadas por um quadro de hemoparasitas, situação não rotineira para
22 esta espécie (BUSH, 2004).

23 **2.5 Bioquímica sérica**

24 O perfil bioquímico sérico tem fundamental importância na identificação e
25 monitoramento de distúrbios metabólicos, servindo como um indicador do funcionamento,
26 principalmente, dos sistemas renal, hepático e digestivo (NELSON; COUTO, 2010).

27 No monitoramento de enfermidades renais ou digestivas observa-se proteinúria e
28 severa hipoalbuminemia, o que pode levar a um quadro de edema. O monitoramento da
29 fosfatase alcalina (FA) observa-se que ela é mais elevada em animais jovens, e auxilia no
30 diagnóstico de doenças hepáticas degenerativas e obstrutivas em felinos (COLES, 1984). A
31 alanina-aminotransferase (ALT) é um marcador específico de lesão celular em felinos, e
32 serve como um marcador de lesão do parênquima hepático (MEYER; COLES; RICH,

1 1995).

2 A quantificação das concentrações de ureia e creatinina séricas são mais comumente
3 utilizados na rotina clínica para se averiguar o funcionamento do sistema renal. O quadro
4 de azotemia ocorre quando esses componentes no sangue se encontram acima da faixa de
5 normalidade (LANIS et al., 2008).

6 **2.6 Biomarcadores cardíacos**

7 A utilização de marcadores cardíacos na Medicina Veterinária, como meio de
8 diagnóstico de lesão do miocárdio, ainda não se tornou uma prática rotineira, como ocorre
9 na Medicina Humana. Apesar disso, o seu uso tem se ampliado, principalmente no
10 ambiente da pesquisa, através de estudos experimentais, envolvendo animais domésticos
11 (CAMPLESI et al., 2013; FREITAS et al., 2015).

12 **2.6.1 Creatinofosfo-quinase isoenzima MB (CK-MB)**

13 Os biomarcadores indicam para clínico veterinário a interação de processos
14 biológicos normais e patogênicos, monitora a ação de fármacos sobre os tecidos celulares e
15 a extensão de lesões, e prováveis prognósticos (OYAMA; SISSON, 2004; SOLTER,
16 2008).

17 Dentre os marcadores cardíacos utilizados na Medicina Veterinária está a
18 creatinofosfo-quinase isoenzima MB (CK-MB), que é uma das isoenzimas da
19 creatinoquinase (CK – total); esta última ainda origina as isoensimas CK-MM, presente no
20 músculo estriado, e a CK-BB, predominante nos tecidos digestivo e nervoso (AKTAS et
21 al., 1993). A CK-MB é liberada para o meio extracelular quando ocorre necrose do
22 miocárdio, desta maneira servindo como meio de detecção para injúrias do tecido cardíaco
23 (DINIZ; SCHWARTZ; COLLICCHIO-ZUANAZE, 2007; YONEZAWA et al., 2009).

24 Existem outros marcadores cardíacos, como a troponina cardíaca, que demonstra
25 maior especificidade do que CK-MB na identificação de lesão cardíaca. Isto se deve pelo
26 fato da CK-MB poder se originar também da musculatura esquelética, pulmões, rins e
27 intestino (YONEWAZA et al., 2009). Apesar disso, estudos relatam a importância e
28 sensibilidade da CK-MB como um satisfatório marcador cardíaco, além de recomendar a
29 ressaltar a viabilidade da sua utilização (BAKIREL; GUNES, 2009; CAMPLESI et
30 al., 2013).

31 Em cães com degeneração mixomatosa da valva mitral (DMVM) evidenciou-se o
32 aumento significativo na quantificação de CK-MB, em relação a animais saudáveis,

1 demonstrando que este biomarcador pode ser utilizado na detecção de lesão miocárdica e
2 estabelecer um prognóstico para o paciente (BAKIREL; GUNES, 2009). Em equinos
3 submetidos a exercício de alta intensidade e curta duração, Yonezawa et al. (2015)
4 observaram que houve estresse miocárdico devido ao aumento dos valores de CK-MB em
5 relação ao momento basal, evidenciando, mais uma vez, assim a eficácia da quantificação
6 deste marcador cardíaco no monitoramento de lesão tecidual do coração.

7 Na Medicina Veterinária são escassos os relatos de mensuração de CK-MB na rotina
8 clínica veterinária de cães e gatos, que favorece ao não estabelecimento de valores
9 referenciais para este marcador cardíaco, o que limita seu uso rotineiro (FREITAS et al.,
10 2015). Para gatos essa dificuldade de encontrar valores referências, talvez seja maior do
11 que para cães, uma vez que a escassez de estudos é ainda maior. O que existe são estudos
12 isolados que fornecem valores de diferentes indivíduos, mas não em número suficiente de
13 animais experimentais que possa fornecer um padrão referencial para a espécie. Como em
14 um estudo realizado por Borges et al. (2009), com um total de 20 gatos saudáveis, em que
15 eles obtiveram uma variação de 27 U/L a 62 U/L, para CK-MB, com média de 40,02 e
16 desvio padrão 8,73.

17 **2.7 Parâmetros fisiológicos e eletrocardiográficos**

18 Especificamente na espécie felina é preciso ter cautela e capacidade técnica na
19 aferição dos parâmetros fisiológicos, uma vez que, por uma série de motivos, dentre eles a
20 recente domesticação da referida espécie, dificultem a fidedignidade dos valores obtidos
21 com o exame. Os gatos necessitam de um atendimento cada vez mais especializado, pois
22 são extremamente sensíveis a situações de estresse, como cães no mesmo ambiente de
23 espera para a consulta, manuseio inadequado não só por parte do tutor, mas também do
24 Médico Veterinário. Todos esses fatores poderão influenciar negativamente a aferição dos
25 parâmetros fisiológicos (LITTLE, 2016).

26 O eletrocardiograma (ECG) é uma ferramenta clínica que é utilizada como método
27 de predileção para o diagnóstico de disfunções elétricas do coração (STEPHENSON,
28 2013). Ele registra campos elétricos gerados pelo coração através da superfície corpórea.
29 Durante o registro do ECG, fornece uma representação gráfica da formação de ondas
30 específicas que formam as fases de despolarização e repolarização do miocárdio. Este
31 exame tem fundamental importância no diagnóstico de arritmias cardíacas, como também
32 se pode obter informações sobre dilatação e hipertrofia das câmaras cardíacas

1 (GOODWIN, 2002).

2 Em gatos a principal indicação clínica para o ECG, segundo Côte et al. (2011), é a
3 avaliação do ritmo cardíaco, podendo também ser utilizado para o dimensionamento de
4 câmaras, porém com baixa especificidade diagnóstica.

5 A espécie felina apresenta frequências cardíacas elevadas e pequenas deflexões no
6 ECG, diferentemente dos cães; desta maneira necessita de um adequamento na calibração
7 do aparelho, definindo-se a velocidade para 50 mm/s e amplitude de 20 mm/mV para que,
8 assim, se obtenha um registro mais otimizado (CÔTE et al., 2011).

9 Os eletrodos do ECG são distribuídos especificamente na superfície corpórea para
10 que se obtenha as derivações eletrocardiográficas padrões: I, II, III, aVR, aVL e aVF
11 (Figura 2). Derivações I, II e III são bipolares padrões, formadas a partir do registro de dois
12 eletrodos específicos. Derivações aVR, aVL e AVF são formadas a partir de um eletrodo
13 específico em relação ao ponto médio entre dois outros eletrodos, e são denominadas de
14 unipolares de membros aumentados (GOODWIN, 2002).

15 O ECG é composto por onda P, a qual corresponde a despolarização ou contração
16 atrial; complexo QRS, despolarização ou contração ventricular (a onda Q é a primeira
17 deflexão negativa; onda R é a primeira deflexão positiva; onda S é a deflexão negativa que
18 segue a onda R); onda T, representa a repolarização ou relaxamento ventricular (TILLEY;
19 BURTNICK, 2004; WARE, 2009). No Quadro 1 está demonstrado, conforme Godwin
20 (2002), os valores de referência para o ECG em felinos.

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

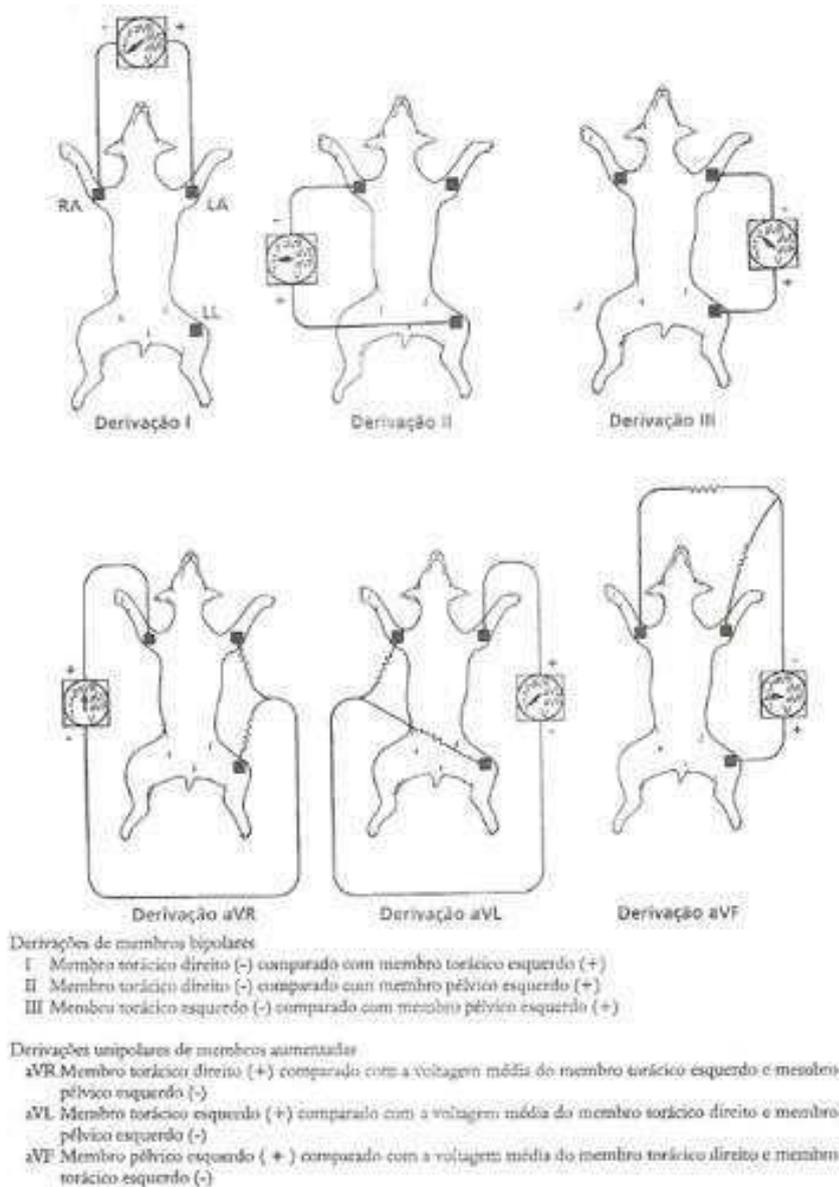


Figura 2: Esquemática das derivações padrão ECG.

Fonte: Adaptado de Godwin (2002)

Quadro 1: Valores normais de referência de eletrocardiograma para gatos.

Medidas Derivação II	Onda P (Amplitude)	Onda P (Extensão)	Intervalo P-R	Complexo QRS (Extensão)	Onda R (Amplitude)	Onda T (Amplitude)
	0,2 mV	0,04 s	0,05 – 0,09 s	0,04 s	0,9 mV	0,3 mV
Valores segundo Godwin (2002)						

1 **3 MATERIAL E MÉTODOS**

2
3 O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP), do Centro de
4 Saúde e Tecnologia Rural (CSTR), da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG),
5 Campus de Patos – PB, sob o protocolo de nº CEUA 262/2015.

6 **3.1 Local de experimento**

7 A pesquisa foi desenvolvida no Hospital Veterinário, da Universidade Federal de
8 Campina Grande (HV/UFCG), Campus de Patos-PB.

9 **3.2 Animais e delineamento experimental**

10 Foram utilizados 8 gatos, adultos, 5 machos e 3 fêmeas, selecionados casualmente,
11 sem raça definida, peso médio $3,15 \pm 0,55$ kg, clinicamente saudáveis, errantes, distribuídos
12 em dois grupos, de 8 indivíduos; um por animais controle (GC) e outro composto por
13 animais suplementados com vitamina E (dL-alfa-tocoferol), formando o grupo
14 experimental (GE). Os gatos foram alocados em gatis individuais, com dimensões 1 m de
15 largura X 2,5 m de comprimento X 1,5 m de altura, de alvenaria e tela galvanizada, com
16 bebedouros e comedouros manuais, caixa de areia para deposição de fezes e urina.

17 O manejo nutricional foi baseado na oferta de água à vontade e ração comercial
18 balanceada, a qual continha 250 UI/kg de vitamina E por quilograma de ração. Com
19 relação aos animais do grupo experimental (GE), ofertou-se também vitamina E, em
20 suspensão (Figura 3), por via oral, diluída em 10 mL de leite (Figura 4), na dose de 40
21 UI/kg uma vez ao dia, conforme Branson e Adams (2003), durante. O consumo foi feito de
22 forma rápida e voluntária pelos animais.

23 O experimento teve duração total de 60 dias; os 15 primeiros denominados de
24 período pré-experimental, no qual os animais receberam apenas ração comercial
25 balanceada, água a vontade e foram vermifugados. No 15 dia foi realizada a primeira
26 coleta de dados; este momento foi denominado de M0, o qual forneceu os valores
27 referenciais, formando o GC. Posteriormente a esta fase iniciou-se os 45 dias de
28 suplementação de vitamina E, avaliada através da coleta de dados periódicos, em intervalos
29 regulares de 15 dias, formando os momentos do GE, respectivamente M1, M2 e M3. Por
30 se tratar de gatos errantes, a idade foi estimada como sendo de um a três anos, com base
31 nas suas características físicas.

32



Figura 3: Vitamina E em suspensão

Fonte: Arquivo pessoal, HV-
UFCG,2016



Figura 4: Ingestão de vitamina E

Fonte: Arquivo pessoal, HV-
UFCG,2016

3.3 Variáveis avaliadas

3.3.1 Parâmetros fisiológicos

As variáveis clínicas registradas consistiram na avaliação da Frequência Cardíaca (FC), utilizando-se estetoscópio clínico (Figura 5), e o resultado expresso em batimentos por minuto (bat/min); Frequência Respiratória (FR), obtida por leitura direta dos movimentos torácicos, registradas em movimentos por minuto (mov/min); e Temperatura corporal (TC), através da introdução de termômetro clínico digital introduzido na ampola retal do animal, permanecendo em uma angulação de modo a possibilitar o seu contato com a mucosa retal, por um período de um minuto; e o resultado expresso em graus Celsius ($^{\circ}\text{C}$) (Figura 6).



Figura 5: Aferição da frequência cardíaca

Fonte: Arquivo pessoal, HV-
UFCG,2016



Figura 6: Aferição da temperatura corporal

Fonte: Arquivo pessoal, HV-
UFCG,2016

1 3.3.2 Parâmetros hematológicos e bioquímicos

2 Para realização do hemograma e da bioquímica sérica, coletou-se 3 mL de sangue
3 através de punção da veia jugular externa, distribuídos em dois tubos, um com ativador de
4 coagulação, o qual centrifugado para a obtenção do soro e em seguida foi congelado para
5 posterior processamento e outro com com ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA)
6 potássico.

7 Na série vermelha (eritograma) do hemograma obteve-se dados referentes a
8 contagem global de eritrócitos, o teor de hemoglobina e o volume globular; obtidos através
9 das leituras em aparelho analisador hematológico automático¹ (Figura 7). Através desses
10 parâmetros analisou-se os índices hematiméticos: hemoglobina corpuscular média (HCM),
11 volume corpuscular médio (VCM), concentração de hemoglobina corpuscular média
12 (CHCM), segundo Thrall et al. (2014) como também o índice diferencial do tamanho entre
13 hemácias (RDWc) para determinar possível anemia dos animais. Na série branca
14 (leucograma) analisou-se contagem global de leucócitos e para contagem diferencial de
15 agranulócitos (monócitos e linfócitos) e granulócitos (neutrófilos, eosinófilos e basófilos),
16 foram confeccionados esfregaços sanguíneos, corados com corante Panótico²,
17 identificando-se as células em microscópio com objetiva de imersão a óleo (100x),
18 conforme descrito por Birgel et al. (1982). Os leucócitos foram classificados de acordo
19 com suas características morfológicas e tintoriais, e o resultado, obtido em percentual, de
20 cada tipo celular, foi transformado em valor absoluto, levando-se em consideração a
21 contagem global dos leucócitos.

22 Os valores da bioquímica sérica foram obtidos, pelo método colorimétrico após
23 descongelamento e análise do soro, realizando-se as leituras em aparelho semi-automático³
24 (Figura 8). As análises consistiram da avaliação das concentrações de proteína plasmática
25 total, albumina, globulina, uréia, creatinina, alanino aminotransferase (ALT), fosfatase
26 alcalina (FA) e creatinofosfo-quinase isoenzima MB (CK-MB). Para a mensuração da CK-
27 MB foi utilizado o kit humano, devido a impossibilidade de obtenção do kit específico para
28 animais domésticos, uma vez que não há comercialização no Brasil.

29 A mensuração dos valores de malondialdeído (MDA) foram obtidos através da
30 condensação com o ácido tiobarbitúrico (TBA). Está reação é denominada teste das

¹ SDH 3 VET – Labtest Diagnóstica SA

² Instant Prov, NewProv - Produtos para Laboratório LTDA. Pinhadas - PR

³ BIOCLIN – BID 200FL®

1 substâncias que reagem com o ácido tiobarbitúrico (TBARS) (LIMA; ABDALA, 2001). O
2 conteúdo de TBARS basal foi determinado pelo método de Buege; Aust (1978), havendo a
3 existência de modificações. Especificamente, 0,05 mL de soro foi misturado com 0,2 ml de
4 reagente (0,375% de ácido tiobarbitúrico e 15% de ácido tricloroacético). Depois de
5 centrifugado, o sobrenadante foi aquecido durante 15 min em banho maria a 100°C. Após
6 resfriamento, a absorbância foi determinada a 535 nm. A curva de calibração do MDA
7 foi preparada através da hidrólise de acetal dietílico de malondialdeído (1,1,3,3-
8 Tetraethoxypropane CAS nº 122-31-6) ao misturar 0,2 mL do último
9 composto com 0,8 mL de NaCl (150 mM) e 0,03 mL de HCl (6,0 M), de acordo
10 com Jain (2010).

11 3.3.3 Eletrocardiograma

12 O exame foi realizado com o animal em decúbito lateral direito, utilizando-se para o registro
13 eletrocardiográfico o aparelho ECG USB DL660 Vet® - DeltaLife. Posicionou-se os eletrodos para
14 a obtenção das derivações bipolares DI, DII e DIII e as unipolares de membros aumentados aVR,
15 aVL e aVF (Figura 9), segundo recomendações de Goodwin (2002). A monitoração teve duração
16 média de um minuto e o traçado foi arquivado em computador para posterior avaliação e
17 mensurações (Figura 10). Determinou-se frequência cardíaca, ritmo, eixo cardíaco médio, duração
18 em segundos de P, PR, QRS, ST, T e QT; assim como as amplitudes em milivolts (mV) de P, R e
19 variação do segmento ST em relação à linha de base. Ajustou-se a velocidade do registro para 50
20 mm/s e uma calibração de 2 cm igual a 1 mV.

21



22

Figura 3: Analisador automático hematológico.

Fonte: Arquivo pessoal, VetLab,²⁵
2016

26



Figura 4: Aparelho semiautomático de análise bioquímica.

Fonte: Arquivo pessoal, VetLab, 2016

1

2



3

4

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

34

35

36

37

38

39

40

41

42

43

44

45

46

47

48

49

50

Figura 5: Realização do exame eletrocardiográfico.

Fonte: Arquivo pessoal, HV-
UFCG,2016

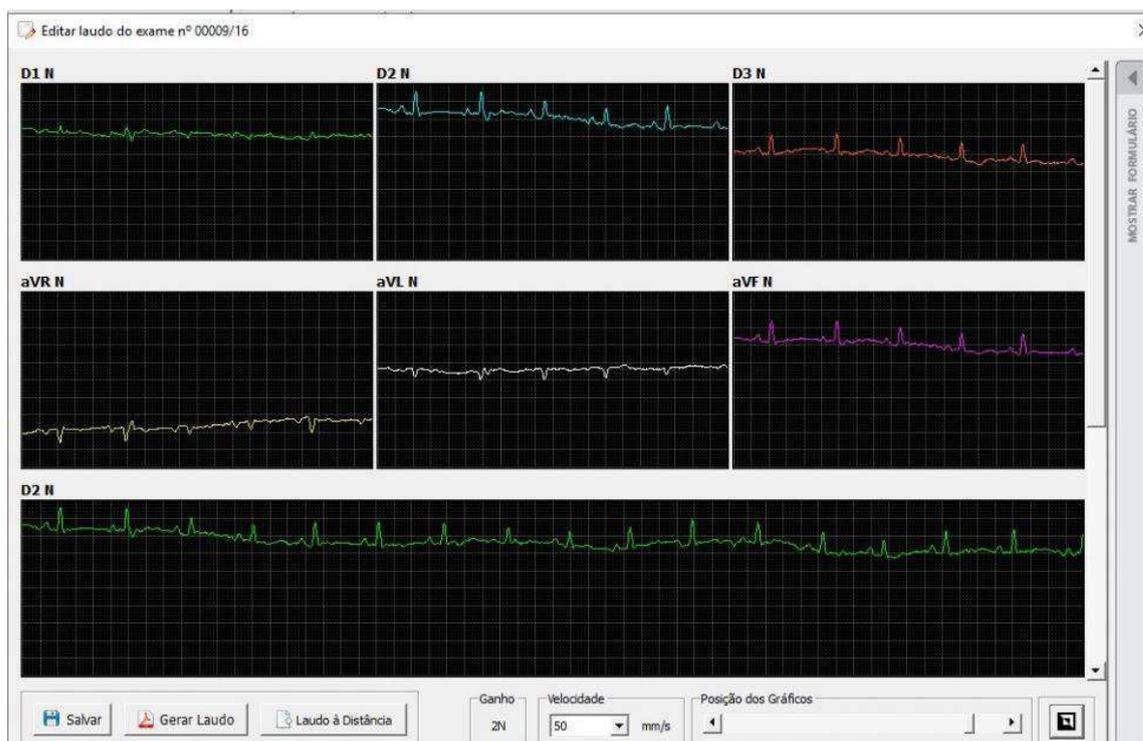


Figura 6: Traçado eletrocardiográfico.

Fonte: Arquivo pessoal, HV-
UFCG,2016

3.4 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância para “K” amostras independentes paramétricas ou não paramétricas e análise descritiva ($p \leq 0,05$) (ZAR, 1999).

1 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2 4.1 Parâmetros fisiológicos

3 Quanto a frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR) e temperatura
 4 corporal (TC), estatisticamente não houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os grupos
 5 (Tabela 1). Porém, de acordo com Feitosa (2014), os gatos do experimento, em ambos os
 6 grupos, apresentaram-se taquipneicos em todos os momentos de aferição; a média de
 7 mensurações para todos os momentos foi de $57,35 \pm 0,66$ mov/min, enquanto que os valores
 8 referenciais para a espécie estão entre 20 a 30 mov/min. O aumento da FR é o primeiro
 9 mecanismo acionado em situações de estresse, pelo organismo animal (SILVA, 2000). O
 10 discreto aumento nos valores registrados é justificado, possivelmente, pelo ambiente
 11 experimental correlacionado aos procedimentos realizados no animal, os quais podem
 12 causar estresse e variação do parâmetro fisiológico avaliado. A manutenção dos valores de
 13 FC e TC no intervalo referencial, está justificado a necessidade de estímulos maiores de
 14 estresse para que haja aumento destas variáveis (FAM et al., 2010).

15

16 Tabela 1-Valores médios e desvios-padrão da frequência cardíaca (FC), frequência
 17 respiratória (FR) e temperatura corporal (TC), de felinos antes (M0) e durante
 18 (M1, M2 e M3) a suplementação com vitamina E.

19

VARIÁVEIS FISIOLÓGICAS	GC		GE	
	M0	M1	M2	M3
FC 120 - 240 (bat/min)	140,2±20,9	135±13,2	144,7±8,6	144,6±13,4
FR 20 -30 (mov/min)	58,2±18,2	57±14,1	57,5±18,6	56,7±10,4
TC 37,5 – 39,5 (°C)	38,3±0,7	38,4±0,6	38,5±0,6	38,1±0,5

Referência segundo Feitosa (2014).

20

21 4.2 Hemograma

22 Conforme demonstrado na Tabela 2, os dados do eritrograma, nos GC e GE, não
 23 revelaram diferença estatística significante, e as variáveis se mantiveram dentro do
 24 intervalo de normalidade adotado para a espécie. Embora confinados são animais
 25 adaptados ao clima semiárido e ao manejo alimentar, assim como a suplementação
 26 vitamina E pode ter prevenido o desenvolvimento de alterações, como um quadro de

1 anemia (MEINKOTH; CLINKENBEARD, 2000; Garcia-Navarro, 2005; BRUNETTO et
2 al., 2007).

3

4 Tabela 2- Valores médios e desvios-padrão da contagem global de hemácias, concentração
5 de hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina
6 corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina corpuscular média
7 (CHCM), e o índice diferencial do tamanho entre hemácias (RDWc), de felinos
8 antes (M0) e durante (M1, M2 e M3) a suplementação com vitamina E.
9

ERITROGRAMA	GC		GE	
	M0	M1	M2	M3
HEMÁCIAS 5 - 10 ($\times 10^6$) mm ³	8,13 \pm 0,98	8,17 \pm 1,2	7,95 \pm 1,03	8,53 \pm 0,68
HEMOGLOBINA 8 - 15 g/dl	11,91 \pm 1,46	12 \pm 2,2	11,28 \pm 1,68	12,32 \pm 1,26
HEMATÓCRITO 24 - 45 %	35,72 \pm 4,26	35,65 \pm 7,18	34,45 \pm 5,19	37,1 \pm 4,22
VCM 39 - 55 fl	44,01 \pm 3,02	43,34 \pm 3,05	43,27 \pm 3,2	43,45 \pm 3,35
HCM 12,5 - 17,5 pg	14,67 \pm 1,11	14,35 \pm 0,6	14,17 \pm 0,93	14,43 \pm 0,92
CHCM 30,0 - 36,0 g/dl	33,39 \pm 2,19	33,18 \pm 1,18	32,77 \pm 0,77	33,27 \pm 1,43
RDWc 17 - 22 %	15,55 \pm 0,8	15,43 \pm 0,54	15,35 \pm 0,64	15,43 \pm 0,78

Referência segundo Meinkoth; clinkenbeard (2000); Garcia-Navarro (2005).

10

11 Com relação ao leucograma, também não foi observado nenhuma diferença
12 estatística entre os grupos, embora a contagem global de leucócitos do GE no M3 tenha
13 sido acima do limite referencial para felinos, de acordo com Meinkoth e Clinkenbeard
14 (2000) e Garcia-Navarro (2005) (Tabela 3). Sugere-se que o aumento está relacionado a
15 variação individual de três animais que estavam mais estressados durante a última coleta de
16 sangue, os mesmos apresentaram contagem global de leucócitos superior aos demais
17 indivíduos do grupo, fato que elevou a média do M3. Desta maneira a leucocitose foi
18 fisiológica, uma vez que, está elevação de células na corrente sanguínea é observada
19 quando, do compartimento marginal (*pool*), os leucócitos se mobilizam para a circulação
20 geral, mecanismo promovido por situações de estresse. A liberação de adrenalina, das
21 fibras pós-ganglionares autônomas simpáticas e medula da glândula adrenal é responsável
22 por esse mecanismo (CUNNINGHAM, 2013). No plaquetograma nenhum dos grupos
23 apresentou valores fora da normalidade, como também não houve diferença estatística

1 significante (Tabela 3).

2

3 Tabela 3- Valores médios e desvios-padrão da contagem global de leucócitos, contagem
4 diferencial de neutrófilos segmentados, eosinófilos, basófilos, linfócitos,
5 monócitos e plaquetas de felinos antes (M0) e durante (M1, M2 e M3) a
6 suplementação com vitamina E.

7

LEUCOGRAMA E PLAQUETOGRAMA	GC		GE	
	M0	M1	M2	M3
LEUCÓCITOS 5.500-19.500 mm ³	18093,7±5483,7	17410±4774,2	16148,7±3058,3	20783,7±5448,4
SEGMENTADOS 1.925-14.625 mm ³	11327,4±6822,9	10571,6±4111,3	8748,2±2553,2	13023,7±5580,7
EOSINÓFILOS 110 – 2.340 mm ³	1038,0±607,6	1014,9±590,6	1345,8±1725,6	1619,6±2483,7
BASÓFILOS 0 - 195 mm ³	0±0	0±0	0±0	0±0
LINFÓCITOS 1.100-10.725 mm ³	5923,1±1639,7	5628,1±2398	5864,6±1358,7	5777,9±1552,2
MONÓCITOS 55 - 780 mm ³	304,9±235,5	195,1±74,6	212,5±123,6	362,1±184,4
PLAQUETAS 230.000-580.000 mm ³	580.5±67.7	564.5±123.0	525.9±216,2	488.1±99.1

Referência segundo Meinkoth; Clinkenbeard (2000); Garcia-Navarro (2005).

8

9 **4.3 Bioquímica sérica**

10 Na bioquímica sérica (Tabela 4) o grupo controle (GC) representado pelo M0 diferiu
11 estatisticamente do grupo experimental (GE), nos M1 e M2, em relação aos valores médios
12 de proteína plasmática total (PPT), diferença existente devido à inferioridade do valor
13 médio de M0 (73 g/L), quando comparado aos de M1 (85 g/L) e M2 (90 g/L). O valor
14 médio de PPT do GC esteve dentro da faixa de referência para a espécie felina (54 g/L a 78
15 g/L), de acordo com Kaneco et al. (2008), entretanto observou-se que em todos os seus
16 momentos o GE, permaneceu acima dos valores de referência. Em relação aos valores
17 médios de globulinas, houve diferença estatística, quando o M0 (45 g/L) diferiu do M2 (64
18 g/L), sendo que o intervalo de referência para essa variável é de 26 g/L a 51 g/L
19 (KANECO et al., 2008). Portanto, apenas no M0, que representa o GC, a média das
20 globulinas se apresentou dentro dos limites referenciais, enquanto que as médias do GE
21 estiveram acima do limite referencial em todos os momentos. Deve-se ressaltar que os
22 achados observados para as duas variáveis bioquímicas citadas, PPT e globulinas, tem seus

1 aumentos correlacionados, uma vez que a hiperproteinemia do grupo GE foi provocada por
2 uma hiperglobulinemia (BUSH, 2004). Sugere-se que esse aumento dos valores de
3 globulinas, ocorreu devido à atividade imunoestimulante da vitamina E, que
4 provavelmente estimulou um aumento da produção de imunoglobulinas, mais precisamente
5 da fração γ -globulina (BRIGELIUS – FLOHÉ; TRABER, 1999; RADOSTITS; GAY;
6 BLOOD et al., 2002; TWEDT; WEBB; TETRICK, 2003; BUSH, 2004; NRC, 2006;
7 BRUNETTO et al., 2007). Sabe-se que devido a presença do fibrinogênio na mensuração
8 da PPT, está sofre influência do fornecimento de proteína que os felinos do experimento
9 recebiam, através da alimentação. Logo, quando passaram a receber uma alimentação
10 adequada, após o início do experimento, haja vista que eram animais errantes e não
11 recebiam uma alimentação completa anteriormente, é possível que a necessidade proteica
12 tenha sido atingida, fazendo com que, através do fibrinogênio, os valores de PPT
13 aumentassem. Um fato que favorece a aceitação desta hipótese é o ganho de peso médio
14 dos animais, observado ao longo do experimento, inicialmente os felinos $3,15 \pm 0,55$ kg e
15 passaram a $3,45 \pm 0,25$ kg após os 60 dias de experimento (BUSH, 2004; BRUNETTO et
16 al., 2007).

17 Não ocorreu diferença estatística em relação à alanina aminotransferase (ALT),
18 porém a média dos valores do M2 (87,8 U/L) foi maior que o limite superior da faixa de
19 normalidade, que é de 8 a 83 U/L (KANECO et al., 2008). Ressalta-se que não são todos
20 os animais do M2 que apresentaram valores acima da referência, assim como demonstrou o
21 desvio padrão (Tabela 4), mas apenas alguns felinos, cujo os valores exacerbaram a média,
22 resultando assim em elevação da média do M2. O discreto aumento de ALT, isoladamente,
23 não tem relevância clínica, uma vez que os animais não apresentaram nenhuma outra
24 alteração que justificasse uma falha hepática, assim como voltaram a apresentar valores de
25 ALT dentro da faixa de normalidade na avaliação seguinte, em M3 (66,1 U/L) (BUSH
26 2004; THRALL et al., 2014).

27 Em relação a creatinofosfo-quinase isoenzima MB (CK-MB), a média obtida no M0
28 (139,2 U/L) foi significativamente maior que as do M1 (81,3 U/L) e M3 (93,7 U/L).
29 Atribui-se esse resultado à capacidade antioxidante da vitamina E, relatada por Brunetto et
30 al. (2007), que possivelmente promoveu proteção da membrana celular miocárdica contra a
31 ação fisiológica peroxidativa dos radicais livres. Desta maneira pode-se observar a
32 diminuição do teor de CK-MB, ao logo dos momentos, à medida em que se administrou
33 vitamina E. Apesar da média do M2 (104,1 U/L) não ter sido estatisticamente diferente da

do M0 (139,2), existe uma diminuição dos valores médios de todos os momentos do GE em relação ao GC. O M2 teve seu valor médio superior em relação aos de M1 e M3, como foi descrito, justificando-se este achado pelo fato de um dos animais do grupo ter apresentado valor médio superior aos demais no M2. Assim ressalta-se que uma variação individual acabou por elevar o valor médio de M2. Devido à escassez de estudos sobre o uso da CK-MB na medicina felina não é possível se estabelecer um intervalo de referência para a espécie, assim como afirmaram Freitas et al. (2015). O que não impede a utilização deste marcador cardíaco na avaliação de um indivíduo ou de um grupo de animais, como ocorreu nesta pesquisa, com o objetivo de se monitorar a sua liberação pelo miocárdio, ao longo de momentos experimentais ou de um protocolo terapêutico.

11

12 Tabela 4-Valores médios e desvios-padrão da alanina aminotransferase (ALT), fosfatase
13 alcalina (FA), ureia, creatinina, proteína total, albumina, globulina creatinofosfo-
14 quinase isoenzima MB (CK-MB) e malondialdeído (MDA) de felinos antes
15 (M0) e durante (M1, M2 e M3) a suplementação com vitamina E.

16

VARIÁVEIS BIOQUÍMICAS	GC		GE	
	M0	M1	M2	M3
ALT 8 - 83 U/L	55.7±24.3	79.1±45.8	87.8±55.2	66.1±54.8
FA 25 - 93 U/L	27.3±20.7	27.3±7.7	46±52.4	23.1±9.8
UREIA 42.8 - 64.2 mg/dL	58.5±7.7	56.3±5.4	55.5±6.6	54.5±5.9
CREATININA 0.8 - 1.8 mg/dL	1.3±0.16	1.2±0.2	1.2±0.15	1.3±0.2
PPT 54 - 78 g/L	73±10*	85±4*	90±8*	82±8
ALBUMINA 21 - 33 g/L	27±7	24±4	25±6	23±5
GLOBULINA 26 - 51 g/L	45±14*	60±4	64±6*	58±8
CK-MB U/L	139.2±29.7*	81.3±15.9*	104.1±48.7	93.7±27.6*
MDA nmol/mL	10±18.2	9.3±5.6	6.3±4.27	13.4±9.08

Referência segundo Kaneco et al. (2008)

17

18 Não foi observada diferença estatística significativa entre os grupos em relação aos

1 valores de malondialdeído (MDA) (Tabela 4). Assim como, não se têm um valor de
2 referência para está variável na espécie felina, o seu uso deve se restringir ao
3 acompanhamento de um indivíduo ou grupo de animais, ou longo de momentos
4 experimentais ou protocolo terapêutico como ocorre nesta pesquisa. Atribui-se a não
5 comprovação do efeito protetivo da vitamina E sobre a membrana lipídica, que seria
6 possível através da diminuição dos valores de MDA, o fato de a reação que permite a sua
7 visualização no espectro visível ser inespecífica. Uma vez que ocorre reação do ácido
8 tiobarbitúrico com outros compostos, o e.g. acetaldeído, produtos da reação de Mailard,
9 sacarose, glicose, 2,4- alcadienais, os 2-alcenais e o 4-hidroxicenais, o que pode ter
10 sobrestimado a quantificação do MDA, assim como afirmam Berset; Cuvelier (1996).
11 Outro fator que pode ter provocado um aumento nas quantidades de MDA, foi a presença
12 de algumas amostras de soro hemolisadas, o que sabidamente aumenta a liberação de
13 MDA, uma vez que este composto está presente nos eritrócitos também.

14 **4.4 Eletrocardiograma**

15 É possível observar na Tabela 5 que as variáveis eletrocardiográficas mantiveram-se
16 dentro da faixa de normalidade para espécie. Não se constatou diferença estatística
17 significativa entre os grupos experimentais. Os achados corroboram o afirmado por
18 Branson e Adams (2003), ao citarem que a suplementação com vitamina E não promove
19 mudanças sobre a fisiologia do organismo animal, incluindo-se a eletrofisiologia.

20 Não foi observado nenhuma modificação de ritmo cardíaco, ou alguma possível
21 dilatação ou hipertrofia de câmaras, que seriam notadas através da realização da
22 eletrocardiografia. Alguns dos valores mensurados são significativamente inferiores aos
23 citados pela a literatura, porém esses achados não têm nenhuma relevância clínica para a
24 espécie felina (GOODWIN 2002).

25 Os resultados obtidos demonstram a seguridade na utilização da vitamina E, como
26 suplemento antioxidante, para o auxílio no tratamento de enfermidades que possam
27 acometer a espécie felina, desde que prescrita por um Médico Veterinário (BRANSON;
28 ADAMS, 2003).

29

30

31

32

1
2
3
4
5
6

Tabela 5- Valores médios e desvios-padrão de amplitude de onda P, extensão de onda P, intervalo P-R, complexo QRS, amplitude de onda R e amplitude de onda T de felinos antes (M0) e durante (M1, M2 e M3) a suplementação com vitamina E.

VARIÁVEIS ELÉTRICAS	GC		GE	
	M0	M1	M2	M3
Onda P (amplitude) (0,2 mV)	0,17±0,03	0,16±0,04	0,16±0,04	0,15±0,04
Onda P (extensão) (0,04 s)	0,032±0,003	0,030±0,004	0,032±0,003	0,033±0,003
Intervalo P-R (0,05 – 0,09 s)	0,08±0,004	0,08±0,004	0,08±0,006	0,08±0,006
Complexo QRS (0,04 s)	0,04±0,005	0,04±0,003	0,04±0,004	0,04±0,003
Onda R (Amplitude) (0,9 mV)	0,4±0,2	0,5±0,1	0,5±0,1	0,5±0,1
Onda T (Amplitude) (0,3 mV)	0,2±0,1	0,2±0	0,2±0,1	0,2±0,1

Referências segundo Godwin (2002).

7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21

5 CONCLUSÃO

A suplementação de vitamina E em felinos confinados não exerceu influência sobre os parâmetros sanguíneos, fisiológicos e eletrocardiográficos. Na dose proposta, é capaz de aumentar a concentração de γ -globulinas.

O uso de CK-MB como marcador cardíaco é importante para estimar-se a capacidade antioxidante da suplementação da vitamina E.

6 REFERÊNCIAS

ALDERTON, W.K.; COOPER, C.E.;KNOWLES, R.G. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. **Journal Biochemistry**, v.1, p.593-615, 2001.

ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIALS - AAFCO. Dogs and cats nutrient profiles. In: **AAFCO official publication**. Washington, D.C: AAFCO, p. 169-183, 2010.

BABIOR, B.M. NADPH oxidative. **Current Opinion in Immunology**, v.16, p.42-47, 2004.

BAKIREL, U.; GUNES, S. Value of cardiac markers in dogs with cronic mitral valve disease. **Acta Veterinaria**, v.59, n.2-3, p.223-229, 2009.

BARBOSA, K.B.F. et al. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v.23, p.629-643, 2010.

BERSET, C.; CUVELIER, M.E. Methods of Estimating the Degree of Lipid Oxidation and of Measuring Antioxidizing Power, **Sciences des Aliments**, v.16, p.219–245, 1996.

BIRGEL E. Hematologia clínica veterinária. In: BIRGEL E.H.; BENESI F.J. **Patologia Clínica Veterinária**. Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, São Paulo, p.2-49, 1982.

BORGES, M. et al., Determinação da Eletrocardiografia e dos Valores Séricos de Creatina Quinase, Creatina Quinase-MB e Lactato Desidrogenase em gatos. **Colloquium Agrariae**, v.5, n. Especial, p. 174-177, 2009

BRANSON, K. R.; ADAMS, H. R. Vitaminas lipossolúveis. **Farmacologia e Terapêutica em Veterinária**, v. 8, p. 571-586, 2003.

BRIGELIUS – FLOHÉ, R.; TRABER, M. Vitamin E: function and metabolismo. **The FASEB Journal**, v.13, p.1145-1155, 1999.

BRUNETTO, M. A. et al. Imunonutrição: o papel da dieta no restabelecimento das defesas naturais. **Acta Scientiae Veterinariae**. v.35, p.230-232, 2007.

- 1 BUEGE, J.A.; AUST S.D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods Enzymology**, n.52,
2 p.302-310, 1978.
3
4
- 5 BUSH, B. M. **Interpretação de resultados laboratoriais para clínicas de pequenos**
6 **animais**. 1ed., Roca, São Paulo, p.100-148, 2004.
7
8
- 9 CAMPLESI, A.C. et al. Clinical and laboratory evaluation of dogs experimentally
10 intoxicated with toad venom. **Scientific Journal of Animal Science**. v.2, n.11, p.323-333,
11 2013.
12
13
- 14 CANATO, B.D. et al. Caracterização demográfica das populações de cães e gatos
15 supervisionados do município de São Paulo. **Arquivo Brasileiro de Medicina**
16 **Veterinária e Zootecnia**. v.64, n.6, p.1515-1523, 2012.
17
18
- 19 COLES, E. H. **Patologia clínica veterinária**. 3.ed. São Paulo: Manole, 1984. p.566.
20
21
- 22 CÔTE, E. et al. 2011. Hypertrophic Cardiomyopathy. In: **Feline Cardiology**. West Sussex:
23 Willey-Blackwell, p.118-197, 2011.
24
25
- 26 CRAFT, B.D. et al. Phenol-based antioxidants and the in vitro methods used for their
27 assessment. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. v.11, p.148–
28 173, 2012
29
30
- 31 DINIZ, P.P.V.P.; SCHWARTZ, D.S.; COLLICCHIO-ZUANAZE, R.C. Cardiac trauma
32 confirmed by cardiac markers in dogs: two case reports. **Arquivo Brasileiro de Medicina**
33 **Veterinária e Zootecnia**. v.59, n.1, p.85-89,2007.
34
35
- 36 ESTERBAUER, H.; SCHAUR, R. J.; ZOLLNER, H.; Free Radical. **Biology and**
37 **Medicine**, v.11, n.81, 1991.
38
39
- 40 FAM, A. L. P. D. et al. Alterações no leucograma de felinos domésticos (*Felis catus*)
41 decorrentes de estresse agudo e crônico. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e**
42 **Ambientais**. v.8, p.299-306, 2010.
43
44
- 45 FEITOSA, F.L.F. **Semiologia Veterinária: A Arte do Diagnóstico**, 3ed., São Paulo:
46 Roca, p. 640, 2014.
47
48
- 49 FERREIRA, C.S. **Parâmetros do estresse oxidativo no soro de cães alimentados com**

- 1 **rações suplementadas com óleo de caju, óleo de mamona e óleo de peixe.** Jaboticabal:
2 UNESP, 2012. 59 p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Medicina
3 Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2012.
4
5
- 6 FINCH, J.M.; TURNER, R.J. Effects of selenium and vitamin E on immune responses of
7 domestic animals. **Research in Veterinary Science.** v.60, p.97-106, 1996.
8
9
- 10 FISBERG, R.M. et al. Ingestão inadequada de nutrientes na população de idosos do Brasil:
11 Inquérito Nacional de Alimentação 2008-2009. **Revista de Saúde Pública**, v.47, n.1,
12 p.222-230, 2013.
13
14
- 15 FREITAS, M.V. et al. Creatinafosfoquinase-isoenzima MB massa (ck-mb massa) e
16 troponina I (cTnI) em cães (*canis familiaris*). **Ciência Animal Brasileira**, v.16, n.3, p.
17 369-376, 2015.
18
19
- 20 GARCIA-NAVARRO, C.E.K. **Manual de hematologia veterinária.** 2. ed. São Paulo:
21 Varela, p.206, 2005.
22
23
- 24 GOODWIN, J.K. Eletrocardiografia. In: Tilley, L.P.; Goodwin, J.K. **Manual de**
25 **Cardiologia para Cães e Gatos.** 3ed. São Paulo: Rocca, p. 39-65, 2002.
26
27
- 28 HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. Free radicals in biology and medicine.
29 **Oxford University Press, USA, 2015.**
30
31
- 32 HEATON, P. R. et al. Role of dietary antioxidants to protect against DNA damage in adult
33 dogs. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v.132, n.6, p.1720-1724, 2002.
34
35
- 36 HIRATA, L. L.; SATO, M.E.O.; SANTOS, C.A.M. Radicais livres e o envelhecimento
37 cutâneo. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v.23, p.418-424, 2004.
38
39
- 40 Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística — IBGE. Pesquisa Nacional de Saúde, 2013.
41 Rio de Janeiro: **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**; 2013. Acesso em: 04 jan
42 2016. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>
43
44
- 45 JAIN, S.K. Evidence for membrane lipid peroxidation during the in vivo aging of human
46 erythrocytes, **Biochimica et Biophysica Acta.** n.937, p.205-210, 1988.
47
48
- 49 JACKSON, L.W. et al. Oxidative stress and endometriosis. **Human Reproduction**, v.20,

- 1 p.2014-2020, 2005.
2
3
- 4 **KANEKO, J.J.; HARVEY, D.W.; BRUSS, W.L. Clinical biochemistry of domestic**
5 **animals**. 6ed. San Diego: Academic Press, p.916, 2008.
6
7
- 8 **KOHN, B.** Causes, investigation and management of anaemia. International Society of
9 **Feline Medicine**, Porto, 2015.
10
11
- 12 **LANIS, A.B. et al.** Avaliação laboratorial das doenças renais em pequenos animais.
13 **PUBVET**, Londrina, v.2, n.28, 2008.
14
15
- 16 **LECHLEITNER, M. et al.** Tumour necrosis factor-alpha plasma level in patients with
17 type 1 diabetes mellitus and its association with glycaemic control and cardiovascular risk
18 **factors. Journal of Internal Medicine**, v.248, n.1, p.67-76, 2000.
19
20
- 21 **LIEW, F.Y.; WEI, X.Q.; PROUDFOOT, L.** Cytokines and Nitric oxide as effector
22 **molecules against parasitic infections. Philosophical Royal Society of London**, v. 29,
23 **n.352**, p.1311-1316, 1997.
24
25
- 26 **LIMA, É.S.; ABDALLA, D.S.P.** Lipid peroxidation: Mechanisms and evaluation in
27 **biological samples [Peroxidação lipídica: Mecanismos e avaliação em amostras**
28 **biológicas]. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.37, n.3, p.293-303, 2001
29
30
- 31 **LITTLE, S.E.** Capítulo – 2. Abordagem amistosa no atendimento a gatos. In: **LITTLE,**
32 **S.E. O Gato Medicina Interna**. 1ed. Rio de Janeiro: Rocca, p. 19-23, 2016.
33
34
- 35 **LOBO, V.; PHATAK, A.; CHANDRA, N.** Free radicals and functional foods: impact on
36 **human health. Pharmacognosy Review**, v.4, p.118-126, 2010.
37
38
- 39 **LOCATELLI, F. et al.** Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to
40 **patient outcome. Nephrology Dialysis Transplantation**, v.18, n.7, p.1272-1280, 2003.
41
42
- 43 **LOPES, S. T. A.; BIONDO, A.; SANTOS, A. P. Manual de Patologia Clínica**
44 **Veterinária**. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2007.
45
46
- 47 **MAFRA, D.** Peroxidação lipídica em pacientes com insuficiência renal crônica. **Revista**
48 **de Nutrição**, v.12, n.3, p.205-212, 1999.
49

- 1
2 MEINKOTH, J.H.; CLINKENBEARD, K.D. Normal hematology of the dog. In:
3 FELDMAN, B. F.; ZINKEL, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's veterinary hematology**.
4 Philadelphia; Lippincott Williams e Wilkins, p.1055-1063, 2000.
5
6
7 MEYER, D. J.; COLES, E. H.; RICH, L. J. **Medicina de laboratório veterinário.**
8 **Interpretação e diagnóstico.** São Paulo: Roca, 1995. p.308.
9
10
11 NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. Nutrient requirements of dogs and cats.
12 Washington: **National Academy of Science**, p.398, 2006.
13
14
15 NELSON, R.W.; DELANEY, S.J.; ELLIOTT, D.A. Capítulo – 54 Doenças Metabólicas
16 In: NELSON, R.W.; COUTO, C.G. **Medicina Interna de Pequenos Animais**. 4. ed Rio
17 de Janeiro: Elsevier, p.853-865, 2010.
18
19
20 NGO, et al. Reactive oxygen species controls endometriosis progression. **The American**
21 **Journal of Pathology**, v.175, p.225-234, 2009.
22
23
24 OCHSENDORF, F.R. Infections in the male genital tract and reactive oxygen species.
25 **Human Reproduction**. v.5, p.399-420, 1999.
26
27
28 OYAMA, M.A.; SISSON, D.D. Cardiac troponin-I concentration in dogs with cardiac
29 disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.18, n.6, p. 831-839, 2004.
30
31
32 PIERCE, J.D.; CACKLER, A.B.; ARNETT, M.G. Why should you care about free
33 radicals?. **RN magazine**, v.67, p.38-42, 2004.
34
35
36 RADOSTITS, M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C. Capítulo 28 – Doenças metabólicas. In:
37 RADOSTITS, M. **Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos,**
38 **suínos, caprinos e eqüinos**. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. p. 1366 – 1370,
39 2002.
40
41
42 REGULSKI, M.; TULLY, T. Molecular and biochemical characterization of dNOS: a
43 *Drosophila* Ca²⁺/calmodulin-dependent Nitric oxide synthase. **Proceedings of the**
44 **National Academy of Sciences-USA**, v. 26, p. 9072-9078, 1995.
45
46
47 SIKKA, S.C. Role of oxidative stress and antioxidants in andrology and assisted
48 reproductive technology. **Journal of Andrology**, v.25, n.1, p.5-18, 2004.
49 SILVA, F.L.R e ARAÚJO, A.M. Desempenho produtivo em caprinos mestiços no Semi-

- 1 árido do Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.29, n.4, p.1028-1035,
2 2000.
3
4
- 5 SILVA, M. L. C. et al. Compostos fenólicos, carotenoides e atividade antioxidante em
6 produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v. 31, n. 3, p. 669-682, 2010.
7
8
- 9 SOLTER, P.F. et al. Canine heterophilic antibodies as a source of false-positive B-type
10 natriuretic peptide sandwich ELISA results. **Veterinary Clinical Pathology**, v.37, n.1,
11 p.86-95, 2008.
12
13
- 14 STEPHENSON, R.B. Capítulo 19 – Atividade elétrica do coração. In: CUNNINGHAM,
15 J.G.; KLEIN, B.G. **Tratado de Fisiologia Veterinária**. 5ª ed., Rio de Janeiro: Guanabara
16 Koogan, p.195-213, 2013.
17
18
- 19 THRALL, M. A. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária** 2ed., São Paulo: Roca,
20 p.688, 2014.
21
22
- 23 TILLEY, L. P.; BURTNICK, N. L. Capítulo 1 – “Como fazer”. In: TILLEY, L. P.;
24 BURTNICK, N. L. **Eletrocardiograma para o clínico de pequenos animais**. São Paulo:
25 Roca, 2004. cap. 1, p. 3-24
26
27
- 28 TORRANCE, A. Overview of Haematological Diagnostic Techniques. In: Day, M.,
29 MACKIN, A.; LITTLEWOOD, A. **Manual of Canine and Feline Haematology and**
30 **Transfusion Medicine**. 2 ed. Gloucester: British Small Animal Veterinary Association.
31 p.3-17, 2000.
32
33
- 34 TRAPP, S.M. et al. Causas de óbito e razões para eutanásia em uma população hospitalar
35 de cães e gatos. **Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science. São**
36 **Paulo**, v. 47, n. 5, p. 95-402, 2010
37
38
- 39 TWEDT, D. C.; WEBB, C. B.; TETRICK, M. A. The effect of dietary vitamin E on the
40 clinical laboratory and oxidant status of dogs with chronic hepatitis. **Journal of**
41 **Veterinary Internal Medicine**, Philadelphia, v. 17, n. 3, p. 418, 2003.
42
43
- 44 VALKO, M. et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and
45 human disease. **International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v.39, p.44-84,
46 2007.
47
48
- 49 van der VEEN, B.S. et al. Myeloperoxidase molecular mechanisms of action and their

1 relevance to human health and disease. **Antioxidant & Redox Signaling**, v.11, n.11,
2 p.2900-2937, 2009.

3
4
5 VANDEWEERD, J-M.; CAMBIER, C.; GUSTIN, P. Nutraceuticals for canine liver
6 disease: assessing the evidence. **The Veterinary clinics of North America. Small Animal
7 Practice**, v.43, n.5, p.1171-1179, 2013.

8
9
10 WIERNSPERGER, N.F. Oxidative stress as a therapeutic target in diabetes: revisiting the
11 controversy. **Diabetes & Metabolism**, v.29, p.579–585, 2003.

12
13
14 WONG, J.W.; HASHIMOTO, K.; SHIBAMOTO, T. Antioxidant activities of rosemary
15 and sage extracts and vitamin E in a model system. **Journal of Agricultural and Food
16 Chemistry**, v.43, n.10, p.2707-2719, 1995.

17
18
19 YONEZAWA, L.A. et al. Efeito da suplementação com vitamina E sobre os metabolismos
20 oxidativo e cardíaco em equinos submetidos a exercício de alta intensidade. **Arquivo
21 Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.67, n.1, p.71-79, 2015.

22
23
24 YONEZAWA, L.A.; SILVEIRA, V.F.; MACHADO, L. P. et al. Marcadores cardíacos na
25 medicina veterinária. **Ciência Rural**, v. 33, p. 45-47, 2009.

26
27
28 ZABOLOTZKY, S. M.; WALKER D. B. Peripheral Blood Smears. In: **Cowell and
29 Tyler's Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat**. 4 ed. St. Louis:
30 Elsevier. p.458, 2014.

31
32
33 ZAR, J.H. **Biostatistical Analysis**. Prentice Hall, Upper Saddle River: New Jersey, p.663,
34 1999.

35
36
37
38
39