AMANDA VALLONE RICCIO

**Avaliação dos parâmetros etológicos, laboratoriais e do perfil
oxidativo de neonatos muares no primeiro mês de vida: um
comparativo com equinos**

São Paulo
2017

AMANDA VALLONE RICCIO

**Avaliação dos parâmetros etológicos, laboratoriais e do perfil
oxidativo de neonatos muares no primeiro mês de vida: um
comparativo com equinos**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Reprodução Animal
da Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia da Universidade de São Paulo
para a obtenção do título de Mestre em
Ciências

Departamento:

Reprodução Animal - VRA

Área de concentração:

Reprodução Animal

Orientadora:

Profa. Dra. Claudia Barbosa Fernandes

Coorientadora:

Dra. Maria Augusta Alonso

De acordo: _____

Orientadora

São Paulo
2017

Obs: A versão original encontra-se disponível na Biblioteca da FMVZ/USP

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T. 3553
FMVZ

Riccio, Amanda Vallone
Avaliação dos parâmetros etológicos, laboratoriais e do perfil oxidativo de neonatos
muare no primeiro mês de vida: um comparativo com equinos. / Amanda Vallone
Riccio. -- 2017.
115 p.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia. Departamento de Reprodução Animal, São Paulo, 2017.

Programa de Pós-Graduação: Reprodução Animal.

Área de concentração: Reprodução Animal.

Orientador: Profa. Dra. Claudia Barbosa Fernandes.
Co-orientador: Dra. Maria Augusta Alonso.

1. Hematologia. 2. Bioquímico. 3. Apgar. 4. Homeostase oxidatida. 5. Comportamento.
I. Título.

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Estabelecimento de parâmetros de vitalidade, hematológicos, bioquímicos séricos e status oxidativo em neonatos muarenses em um comparativo com equinos", protocolada sob o CEUA nº 6001260715, sob a responsabilidade de **Cláudia Barbosa Fernandes e equipe; Amanda Vallone Riccio** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 28/10/2015.

We certify that the proposal "Establishment of vitality, hematology, serum biochemical parameters and oxidative status in mule neonate in a comparison with equine", utilizing 5 Equines (5 females), protocol number CEUA 6001260715, under the responsibility of **Cláudia Barbosa Fernandes and team; Amanda Vallone Riccio** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 10/28/2015.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **09/2015** a **02/2017**

Área: **Reprodução Animal**

Origem: **Animais provenientes de estabelecimentos comerciais**

Espécie: **Equídeos**

sexo: **Fêmeas**

idade: **a**

N: **5**

Linagem: **Muarenses**

Peso: **a**

Resumo: Serão coletadas amostras de sangue da veia jugular antes da ingestão do colostro, 12 horas após e aos dias 1, 7 e 30 dias de vida dos neonatos muarenses e equinos para análise hematológica e bioquímica. Serão avaliados o APGAR adaptado na primeira hora de vida, os parâmetros vitais ao nascimento, atitude, tempo para ficar em decúbito esternal, tempo de ruptura do cordão umbilical, tempo para levantar, tempo para iniciar o reflexo de sucção, tempo para ingerir colostro e tempo para início da eliminação de mecônio. Também será avaliado o status oxidativos dos neonatos.

Local do experimento:

São Paulo, 21 de julho de 2017

Profa. Dra. Denise Tabacchi Fantoni

Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Roseli da Costa Gomes

Secretaria Executiva da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

São Paulo, 11 de fevereiro de 2016
CEUA N 6001260715

Ilmo(a). Sr(a).
Responsável: Cláudia Barbosa Fernandes
Área: Reprodução Animal
Claudia Barbosa Fernandes (orientador)

Título da proposta: "Estabelecimento de parâmetros de vitalidade, hematológicos, bioquímicos séricos e status oxidativo em neonatos muare ☐ um comparativo com equinos".

Parecer Consubstanciado da Comissão de Ética no Uso de Animais FMVZ/USP

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, no cumprimento das suas atribuições, analisou e **APROVOU** a Emenda (versão de 16/novembro/2015) da proposta acima referenciada.

Resumo apresentado pelo pesquisador: "Serão acompanhados os partos de 40 éguas em um haras localizado em Piracaia/SP, onde os neonatos serão divididos em dois grupos sendo eles: G1: 20 neonatos muare e G2: 20 neonatos equinos. As amostras serão coletadas dos neonatos machos e fêmeas."

Comentário da CEUA: "No formulário da CEUA a interessada apontou apenas o uso das fêmeas, esquecendo de apontar o emprego dos neonatos, o que fez por meio desta emenda."

Profa. Dra. Denise Tabacchi Fantoni
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Roseli da Costa Gomes
Secretaria Executiva da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Comissão de Ética no Uso de Animais

São Paulo, 19 de outubro de 2017
CEUA N 6001260715

Ilmo(a). Sr(a).
Responsável: Cláudia Barbosa Fernandes
Área: Reprodução Animal
Claudia Barbosa Fernandes (orientador)

Título da proposta: "Estabelecimento de parâmetros de vitalidade, hematológicos, bioquímicos séricos e status oxidativo em neonatos muarens em um comparativo com equinos".

Parecer Consubstanciado da Comissão de Ética no Uso de Animais FMVZ/USP

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, no cumprimento das suas atribuições, analisou e **APROVOU** a Notificação (versão de 11/setembro/2017) da proposta acima referenciada.

Resumo apresentado pelo pesquisador: "Serão acompanhados os partos de 47 éguas em um haras localizado em Piracaia/SP, onde os neonatos serão divididos em dois grupos sendo eles: G1: 30 neonatos muarens e G2: 17 neonatos equinos. As amostras serão coletadas dos neonatos machos e fêmeas".

Comentário da CEUA: "Foi alterado o N inicial do projeto de 40 éguas para 47 éguas gestantes, e os neonatos subdivididos em grupos de 30 e 17 animais".

Profa. Dra. Anneliese de Souza Traldi
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Claudia Madalena Cabrera Mori
Vice-Presidente
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: RICCIO, Amanda Vallone

Título: **Avaliação dos parâmetros etológicos, laboratoriais e do perfil oxidativo de neonatos muare no primeiro mês de vida: um comparativo com equinos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais (Antonio e Ana) e minha irmã (Aline) por apoiarem minhas escolhas e meus sonhos loucos. Obrigada por nunca me impedirem de lutar e buscar meus objetivos. Foram muitos momentos de dificuldade, incertezas e ausência, mas vocês estiveram sempre ao meu lado, me dando todo conforto e amor necessário. Vocês são meu alicerce, muito obrigada!

À minha orientadora Cláudia, que confiou na minha capacidade e vontade de trabalhar com neonato. Agradeço muito todo seu carinho, paciência, ensinamento e respeito pelo nosso trabalho. Você é uma líder fora do comum. Obrigada por me abraçar (literalmente) quando eu precisei.

À Guta, minha coorientadora, por todos momentos durante esses três anos. Muito obrigada por abrir as portas da sua casa, por me ensinar tudo o que sei sobre reprodução equina e me incentivar a entrar no mestrado. Agradeço sua amizade e por confiar em mim principalmente quando a Maria Luiza (paçoquinha) nasceu.

Aos meus amigos de laboratório Danilo e Fernanda. Dan, muito obrigada pela parceria durante os experimentos, com certeza aprendemos demais juntos. Foram momentos intensos, que fortaleceram nossa amizade e carinho. Te admiro demais. Fernandinha, eu não tenho palavras pra agradecer a irmã mais velha que você foi nesses últimos meses. Obrigada por estar comigo, por toda ajuda, ensinamento, paciência e humildade. Por ouvir meus desabafos e entender meu desespero e choro. Você é minha musa inspiradora, um exemplo de pessoa e profissional.

À Professora Carla Belli por estar sempre pronta para ajudar. Obrigada por me adotar quando estive orfã, pelas ótimas idéias na qualificação e por fazer parte da banca de defesa.

Aos meus queridos e lindos amigos Fernanda (Amor 2), Filipe (Bebê), Mayara (Pônei), Newton (Gordinho) e Paula (Amigaaa). Sem vocês não seria possível. Sou eternamente grata pela amizade, paciência, dedicação e por toda ajuda nesses dois anos de mestrado. Foram momentos maravilhosos, muita parceria, carinho, amor e ensinamento. Com certeza a melhor equipe que Deus poderia ter me dado. Nosso santo bateu, que sorte.

Às minhas gurias Carol, Dani, Jane, Joana, Mari, Pri e Van. Vocês são pra sempre. Obrigada por todo apoio e incentivo. A distância e os caminhos distintos só fortalecem nossa amizade.

Aos meus três irmãos de coração, Ana Paula, Gustavo e Tathiane. Como é bom ter amigos com quem pude contar em todas as horas. Vocês são importantes demais.

Ao Dr. Bruno Braghetta pela cumplicidade, por ter se tornado um grande amigo e sempre me resgatar quando precisei.

Aos estagiários da Fazenda Santa Rita II por toda ajuda e companhia durante os plantões. Em especial à Carol e à Maria Fernanda. Carolzita muito obrigada pela ajuda, você foi parceira demais principalmente no ano novo. Fer sou imensamente grata por toda atenção e carinho comigo quando operei.

À Fazenda Santa Rita II que gentilmente disponibilizou seus animais, laboratório e moradia para esta pesquisa. Aos funcionários, em especial ao José, Fábio e Samuel, foi um prazer imenso trabalhar com vocês.

Em memória ao Ricardo Alonso, que abriu as portas da sua fazenda e casa quando cheguei em Piracaia. Obrigada por confiar no meu trabalho e na minha amizade com sua filha e neta.

À Dra. Patrícia Brossi por toda ajuda, orientação e ensinamento na clínica dos neonatos. Muito obrigada por sempre me atender com tanta atenção e por fazer parte da banca de defesa desta dissertação.

À Janaina do Zoonóstico Centro de Diagnóstico Veterinário e à Clara do Departamento de Clínica Médica da FMVZ-USP por analisarem minhas amostras e sempre estarem dispostas a me ajudar, muito obrigada.

Agradeço à Maíra e à Clau pela atenção e por me ajudarem nas análises.

Ao Diego, à Giulia e ao Professor Marcílio por dedicarem parte do tempo para me ajudar nas análises e na estatística. Muito obrigada.

Ao Sr. Luis Eduardo dos Santos e a empresa Vencofarma pela concessão dos testes de IgG em potros para auxílio na execução do experimento.

Aos pós graduandos e professores do VRA.

À CAPES pela concessão da bolsa.

***“Aos outros dou o direito de ser como são,
a mim dou o dever de ser
cada dia melhor” (Chico Xavier)***

RESUMO

RICCIO, A. V. Avaliação dos parâmetros etológicos, laboratoriais e do perfil oxidativo de neonatos muares no primeiro mês de vida: um comparativo com equinos. [Evaluation of ethological, laboratory and oxidative parameters of newborn mules during the first month of life: a comparative with equine]. 2017. 115f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar os parâmetros de vitalidade, comportamentais, laboratoriais e perfil oxidativo de neonatos muares, comparando-os com os equinos, durante o primeiro mês de vida. Os neonatos foram acompanhados logo após o nascimento, sendo avaliado o escore Apgar nos momentos 0, 5, 10, 30 e 60 minutos pós-parto, além do comportamento (tempo para se posicionar em decúbito esternal, iniciar reflexo de sucção, levantar, iniciar ingestão de colostro e eliminar mecônio) e a necessidade de realização de enema. Observou-se o tempo de delivramento e peso dos anexos fetais e dos potros. A proporção do peso dos potros em relação aos anexos fetais foi calculada no grupo dos muares. Foram realizados exames hematológicos e bioquímicos. Para a avaliação do perfil oxidativo foi mensurada a peroxidação lipídica utilizando o TBARS e a oxidação de proteína. Como sistema antioxidante foi mensurada a atividade enzimática da glutathione peroxidase e superóxido dismutase, e não enzimática as quantidades séricas de bilirrubinas total, indireta e direta. O escore Apgar ao nascimento, 5, 10 e 30 minutos de vida foi maior nos muares. Os muares iniciaram a ingestão de colostro mais precocemente que os equinos, e demoraram mais para eliminar o mecônio. O tempo para delivramento dos anexos fetais foi menor nas éguas gestantes de luar. Os demais parâmetros comportamentais e os pesos dos potros e anexos foram semelhantes nos dois grupos. Não houve correlação entre os pesos dos neonatos e dos anexos fetais nos muares. Nos muares, CHCM, plaquetas, albumina, cálcio, cloro, ferro e magnésio foram maiores. A contagem dos leucócitos totais, neutrófilos segmentados, linfócitos, assim como a relação neutrófilo:linfócito, fibrinogênio, BT, BD, BI, colesterol e CK foi menor nos muares quando comparado aos equinos. Houve interação entre grupo e tempo na contagem de hemácias, hematócrito, hemoglobina, leucócitos totais, neutrófilos

segmentados, glicose, ureia, albumina, triglicérides, colesterol, CK e ferro. No perfil oxidativo não houve interação entre grupo e tempo para nenhuma variável analisada. O TBARS foi menor no grupo dos muare, enquanto que a atividade enzimática da GPx foi maior. Ocorreu uma queda progressiva do TBARS nos neonatos, sendo que a GPx se manteve constante do nascimento até os 7 dias, tendo um aumento significativo aos 30 dias. A oxidação de proteína não teve efeito de tempo e de grupo. A SOD não foi influenciada pelo grupo, permanecendo constante nos tempos analisados, com exceção da 1 hora, com menor atividade em relação às 6 horas, 7 e 30 dias. As concentrações das bilirrubinas foram menores nos muare. Tendo em vista os resultados encontrados, este estudo oferece dados de referência comportamentais, hematológicos, bioquímicos e oxidativos para muare saudáveis no primeiro mês de vida, podendo ser útil para o diagnóstico e tratamento de neonatos comprometidos.

Palavras-chave: Hematologia. Bioquímico. Apgar. Homeostase oxidativa. Comportamento.

ABSTRACT

RICCIO, A. V. Evaluation of ethological, laboratory and oxidative parameters of newborn mules during the first month of life: a comparative with equine. [Avaliação dos parâmetros etológicos, laboratoriais e do perfil oxidativo de neonatos muas no primeiro mês de vida: um comparativo com equinos]. 2017. 115f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

The aim of the present study was to evaluate vitality, behavioral and laboratory parameters and oxidative profile of newborn mules, comparing with horses during the first month of life. The foals were monitored just after delivery and Apgar score was assessed at 0, 5, 10, 30 and 60 minutes postpartum. Foal's postpartum behavior were timed (time to get in sternal recumbency, to start suckle reflex, to stand, to ingest colostrum and to eliminate meconium) and the need of enema was evaluated. Time to eliminate placenta and weight were recorded and foal's weight. The relationship between placental and foal weight was calculated for the mule's group. Laboratory evaluation included hematological and biochemical parameters, while lipid peroxidation was measured using TBARS and protein oxidation. Glutathione peroxidase activity, superoxide dismutase and total, indirect and direct bilirubin were used to evaluate the antioxidant profile. Apgar score at birth, 5, 10 and 30 minutes after birth was higher in mules. Mules started nursing colostrum earlier than horses, however elimination of meconium started later. Mares pregnant with mules eliminated fetal membranes earlier. Foal's and placental weight were similar between groups. There was no correlation between placental and foal's weight. Mules had higher MCHC, platelets, albumin, calcium, chloride, iron and magnesium, while total leukocytes, segmented neutrophils, lymphocytes, neutrophil:lymphocyte ratio, fibrinogen, BT, BD, BI, cholesterol and CK were lower in mules compared to horses. Interaction was found between group and time for red blood cells, hematocrit, hemoglobin, total leukocytes, segmented neutrophils, glucose, urea, albumin, triglycerides, cholesterol, CK and iron. Oxidative profile results showed no interaction between group and time for the analyzed variables. TBARS was lower in mules, while GPx activity was higher. There was a progressive TBARS decrease over time in the studied neonates, with GPx remaining constant at birth and 7 days, with a significant increase at 30 days. Time and group did not affect protein oxidation. SOD

did not have a group effect and its activity was constant between analyzed times, except at 1 hour, when activity was lower than 6 hours, 7 and 30 days. Bilirrubins were lower in mules. Based on the differences found between species, this study offers reference values for behaviour, hematology, biochemistry and oxidative aspects in healthy mule neonates during the first month of life, and it can be useful for diagnosis and treatment of compromised neonates.

Keywords: Hematology. Biochemistry. Apgar. Oxidative balance. Behavior.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Média $\pm$ erro padrão do escore Apgar modificado durante a primeira hora de vida nos neonatos muares e equinos.....	45
Tabela 2 - Média $\pm$ erro padrão dos tempos para decúbito esternal (DE), iniciar reflexo de sucção (RS), levantar (L), iniciar ingestão de colostro (C) e iniciar eliminação de mecônio (M) dos grupos mular e equino, cronometrados a partir da expulsão completa do neonato no momento do parto.....	46
Tabela 3 - Média $\pm$ erro padrão dos pesos dos neonatos nas primeiras horas de vida após ingestão de colostro, e dos anexos fetais após delivramento nos grupos mular e equino.	47
Tabela 4 - Parâmetros hematológicos expressos pela média $\pm$ erro padrão dos grupos mular e equino, e valores de p do grupo e da interação grupo e tempo.	62
Tabela 5 - Média $\pm$ erro padrão da contagem de hemácias ($\times 10^6/\mu\text{L}$) entre os grupos mular e equino, avaliados do nascimento até 30 dias.....	62
Tabela 6 - Média $\pm$ erro padrão do hematócrito (%) entre os grupos mular e equino, avaliados do nascimento até 30 dias.	63
Tabela 7 - Média $\pm$ erro padrão da concentração de hemoglobina (g/L) entre os grupos mular e equino, avaliados do nascimento até 30 dias.....	63
Tabela 8 - Média $\pm$ erro padrão da contagem de leucócito total ($\times 10^6/\mu\text{L}$) entre os grupos mular e equino, avaliados do nascimento até 30 dias.....	64
Tabela 9 - Média $\pm$ erro padrão da contagem de neutrófilo segmentado ($\times 10^6/\mu\text{L}$) entre os grupos mular e equino, avaliados do nascimento até 30 dias.....	64
Tabela 10 - Parâmetros bioquímicos das substâncias não eletrolíticas expressos pela média $\pm$ erro padrão dos grupos mular e equino, e valores de p do grupo e da interação grupo e tempo.	65
Tabela 11 - Média $\pm$ erro padrão da concentração de glicose (mg/dL) dos grupos mular e equino, avaliados do nascimento até 30 dias.....	66
Tabela 12 - Média $\pm$ erro padrão da concentração de ureia (mg/dL) entre os grupos mular e equino, avaliados do nascimento até 30 dias.....	66
Tabela 13 - Média $\pm$ erro padrão da concentração de albumina (g/dL) entre os grupos mular e equino, avaliados do nascimento até 30 dias.....	67
Tabela 14 - Média $\pm$ erro padrão da concentração de triglicérides (mg/dL) entre os grupos mular e equino, avaliados do nascimento até 30 dias.....	67

Tabela 15 - Média $\pm$ erro padrão da concentração de colesterol (mg/dL) entre os grupos mular e equino, avaliados do nascimento até 30 dias.....	68
Tabela 16 - Média $\pm$ erro padrão da concentração de CK (U/L), dos grupos mular e equino, avaliados do nascimento até 30 dias.....	68
Tabela 17 - Média $\pm$ erro padrão da concentração de ferro (mmol/L), entre os grupos mular e equino, avaliados do nascimento até 30 dias.....	69
Tabela 18 - Média $\pm$ erro padrão do grau de peroxidação lipídica (TBARS) e oxidação de proteína (Ox. Prot.) entre os grupos de neonatos mulares e equinos e valores de p do grupo e da interação grupo x tempo.	86
Tabela 19 - Média $\pm$ erro padrão da atividade enzimática da superóxido dismutase (SOD) e glutathione peroxidase (GPx) em neonatos mulares e equinos, e valores de p do grupo e da interação grupo e tempo.	87
Tabela 20 - Média $\pm$ erro padrão das concentrações de BT, BD e BI em neonatos mulares e equinos, e valores de p do grupo e da interação grupo e tempo.....	89
Tabela 21 - Peso dos neonatos mulares ao nascimento e peso dos anexos fetais logo após delivramento, bem como a relação entre eles.	104
Tabela 22 - Valores de referência da série vermelha e plaquetas em equinos (<i>Equus caballus</i>) do nascimento até 30 dias de vida.....	106
Tabela 23 - Valores de referência (média $\pm$ desvio padrão) da série vermelha e plaquetas em asininos (<i>Equus asinus</i>) do nascimento até 28 dias de vida.....	107
Tabela 24 - Valores de referência da contagem dos leucócitos em equinos (<i>Equus caballus</i>) do nascimento até 30 dias de vida.....	108
Tabela 25 - Valores de referência (média $\pm$ desvio padrão) da contagem dos leucócitos em asininos (<i>Equus asinus</i>) do nascimento até 28 dias devida.	109
Tabela 26 - Valores bioquímicos de referência em equinos (<i>Equus caballus</i>) do nascimento até 30 dias de vida.	110
Tabela 27 - Valores bioquímicos de referência (média $\pm$ desvio padrão) em asininos (<i>Equus asinus</i>) do nascimento até 28 dias de vida.	112
Tabela 28 - Valores de referência para substâncias eletrolíticas em equinos (<i>Equus caballus</i>) do nascimento até 30 dias de vida.....	114
Tabela 29 - Valores de referência (média $\pm$ desvio padrão) para substâncias eletrolíticas em asininos (<i>Equus asinus</i>) do nascimento até 28 dias devida.	115

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Utilização de medicação comercial laxativa (Fleet Enema®) nos neonatos muares e equinos.....	46
Gráfico 2 - Relação entre o peso dos neonatos e o peso dos anexos fetais, para 27 potros muares.	47
Gráfico 3 - Variação do teste TBARS e oxidação de proteínas nos neonatos do nascimento até 30 dias.	85
Gráfico 4 - Variação das atividades enzimáticas da superóxido dismutase (SOD) e glutathione peroxidase (GPx) em neonatos do nascimento até 30 dias de vida.	87
Gráfico 5 - Variação das bilirrubinas total, direta e indireta nos neonatos do nascimento até 1 mês de vida.....	88

LISTA DE ABREVIATURAS

AST	Aspartato aminotransferase
BD	Bilirrubina direta
BI	Bilirrubina indireta
BT	Bilirrubina total
CHCM	Concentração de hemoglobina corpuscular média
CK	Creatinoquinase
DNA	Ácido desoxirribonucléico
ERNs	Espécies reativas de nitrogênio
EROs	Espécies reativas de oxigênio
FA	Fosfatase alcalina
FC	Frequência cardíaca
FR	Frequência respiratória
GGT	Gama glutamiltransferase
GPx	Glutationala peroxidase
GSH	Glutationala reduzida
GSSG	Glutationala oxidada
GSSGr	Enzima glutationala redutase
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
HCM	Hemoglobina corpuscular média
Kg	Quilograma
IgG	Imunoglobulina G
LDH	Lactato desidrogenase
MDA	Malondialdeído
NADPH	Dinucleotídeo de nicotinamida e adenina reduzido
N	Neutrófilo
N:L	Relação neutrófilo e linfócitos
O ₂ ⁻	Superóxido
Ox. Prot.	Oxidação de proteína
SOD	Superóxido Dismutase
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
VCM	Volume globular médio

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	21
2	REVISÃO DE LITERATURA	23
2.1	AVALIAÇÃO NEONATAL	23
2.1.1	AVALIAÇÃO DE VITALIDADE E DO COMPORTAMENTO DO NEONATO EQUÍDEO	23
2.1.2	AVALIAÇÃO LABORATORIAL.....	25
2.1.2.1	Hemograma, proteína e fibrinogênio	25
2.1.2.2	Eletrólitos séricos	27
2.1.2.3	Glicose e lactato	28
2.1.2.4	Ureia e creatinina	29
2.1.2.5	Avaliação hepática e muscular	30
2.1.2.6	Colesterol e triglicérides	31
2.1.3	PERFIL OXIDATIVO E ANTIOXIDANTE NEONATAL	31
3	HIPÓTESE	35
4	OBJETIVO GERAL	36
5	ARTIGO I – AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL E VITALIDADE DO NEONATO MUAR AO NASCIMENTO: UM COMPARATIVO COM EQUINOS.....	37
5.1	INTRODUÇÃO	41
5.2	MATERIAIS E MÉTODOS	42
5.2.1	ANIMAIS.....	42
5.2.2	AVALIAÇÃO DA VITALIDADE E COMPORTAMENTO NEONATAL	43
5.2.3	DELIVRAMENTO DOS ANEXOS FETAIS, PESO DOS NEONATOS E DOS ANEXOS FETAIS	44
5.2.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA	44
5.3	RESULTADOS	45
5.3.1	AVALIAÇÃO DA VITALIDADE E COMPORTAMENTO NEONATAL	45
5.3.2	DELIVRAMENTO DOS ANEXOS FETAIS, PESO DOS NEONATOS E DOS ANEXOS FETAIS	46
5.4	DISCUSSÃO	47
5.5	CONCLUSÃO	50
	REFERENCIAS.....	51

6	ARTIGO II - ANÁLISE HEMATOLÓGICA E BIOQUÍMICA EM MUARES SAUDÁVEIS DO NASCIMENTO ATÉ 1 MÊS DE VIDA: UM COMPARATIVO COM EQUINOS.....	54
6.1	INTRODUÇÃO	58
6.2	MATERIAIS E MÉTODOS	58
6.2.1	ANIMAIS.....	59
6.2.2	COLETA E ARMAZENAMENTO DAS AMOSTRAS.....	59
6.2.3	ANÁLISE HEMATOLÓGICA	60
6.2.4	ANÁLISE BIOQUÍMICA.....	60
6.2.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA	61
6.3	RESULTADOS	61
6.3.1	ANÁLISE HEMATOLÓGICA	61
6.3.2	ANÁLISE BIOQUÍMICA.....	65
6.4	DISCUSSÃO	69
6.5	CONCLUSÃO	74
	REFERÊNCIAS.....	75
7	ARTIGO III – PERFIL OXIDATIVO E ANTIOXIDANTE EM NEONATOS MUARES: UM COMPARATIVO COM EQUINOS.	78
7.1	INTRODUÇÃO	80
7.2	MATERIAIS E MÉTODOS	81
7.2.1	ANIMAIS.....	81
7.2.2	COLETA E ARMAZENAMENTO DAS AMOSTRAS.....	82
7.2.3	PERFIL OXIDATIVO	82
7.2.3.1	Peroxidação Lipídica e Oxidação de Proteína.....	82
7.2.4	PERFIL ANTIOXIDANTE	83
7.2.4.1	Enzimático.....	83
7.2.4.2	Não enzimático.....	84
7.2.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA	84
7.3	RESULTADOS	84
7.3.1	PERFIL OXIDATIVO	84
7.3.1.1	Peroxidação Lipídica e Oxidação de Proteína.....	85
7.3.2	PERFIL ANTIOXIDANTE	86
7.3.2.1	Enzimático.....	86
7.3.2.2	Não enzimático.....	87

7.4 DISCUSSÃO	89
7.5 CONCLUSÃO	92
REFERÊNCIAS.....	93
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	96
REFERÊNCIAS.....	97
9 APÊNDICES	104
9.1 APÊNDICE A - RELAÇÃO ENTRE O PESO DOS NEONATOS E O PESO DOS ANEXOS FETAIS, PARA 27 POTROS MUARES	104
10 ANEXOS.....	106
10.1 ANEXO A - PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS EM EQUINOS E ASININOS DO NASCIMENTO ATÉ 30 DIAS DE VIDA	106
10.2 ANEXO B - PARÂMETROS BIOQUÍMICOS EM EQUINOS E ASININOS DO NASCIMENTO ATÉ 30 DIAS DE VIDA	110

1 INTRODUÇÃO

Os equídeos são mamíferos da família Equidae e gênero *Equus*, sendo as espécies domésticas representadas pelos equinos (*Equus caballus*, 2n:64), asininos (*Equus asinus*, 2n:62) e pelos híbridos muar e bardoto, resultado do acasalamento das duas espécies. De acordo com a FAO (2014) (*Food and Agriculture Organization of the United Nations*), o Brasil possuía em 2014 cerca de 5.450.000, 927.000 e 1.256.000 cabeças de equinos, asininos e muares respectivamente. Os muares são uma população significativa, representando 16% de todo rebanho nacional de equídeos.

Os muares são considerados animais rústicos, destacando-se pela maior resistência às dietas de baixa qualidade nutricional e consumo inferior de água (MENEZES et al., 2013), inteligência, percepção aguçada e menos reativos a estímulos externos quando comparados a equinos (OLIVEIRA, 2011). Essas características fazem com que se tornem, muitas vezes, mais adaptáveis para os trabalhos nas fazendas. Além disso, com o crescente desenvolvimento de categorias esportivas, como provas de laço, cavalgadas e provas de marcha, aumentou rapidamente o mercado dos muares (FARIAS, 2014; RIBEIRO, 2017).

Portanto, atualmente, existe uma demanda grande para o nascimento de animais saudáveis, com potencial econômico e proveniente de cruzamentos entre éguas e jumentos geneticamente superiores. No entanto, apesar das biotecnologias da reprodução e investimentos realizados a fim de se obter uma prenhez, o período compreendido entre sua confirmação e o parto é geralmente ignorado. Desta forma, um monitoramento da gestação e do parto das éguas, bem como avaliações neonatais são de extrema importância para garantir a saúde de ambos.

A neonatologia foi definida por Alexandre Schaffer, como “a arte e a ciência do diagnóstico e o tratamento dos distúrbios do recém-nascido” (SCHAFFER; AVERY, 1977). Na Medicina Veterinária o período neonatal é considerado a fase de transição da vida fetal para a extrauterina (BAUER et al., 1984). Nos equinos, apesar de existirem muitos períodos considerados por diferentes autores na literatura, sabe-se que os primeiros 4 dias de vida são críticos devido ao estabelecimento da homeostase (BRINSKO et al., 2011) e durante o primeiro mês de vida o potro requer

atenção especial, uma vez que afecções multissistêmicas são frequentes neste período (PIERCE, 2003).

Assim, é de extrema importância o conhecimento da fisiologia e monitoramento do neonato nas primeiras horas de vida, avaliando a vitalidade e o comportamento específico para cada espécie, a fim de identificar um neonato portador de anormalidades (ACWORTH, 2003; LOURENÇO; MACHADO, 2013).

Para auxiliar a avaliação neonatal, diferentes autores estabeleceram parâmetros laboratoriais fisiológicos para equinos e asininos até 7 dias (KNOTTENBELT; HOLDSTOCK; MADIGAN, 2004), 21 dias (VERONESI et al., 2014), 30 dias (HARVEY, 1990; AXON; PALMER, 2008) e 60 dias (SGORBINI et al., 2013) pós-nascimento. Além da idade, outros fatores influenciam nas variações dos parâmetros de vitalidade e laboratoriais, como a variação interespecies (ORSINI; DIVERS, 2013). Tendo em vista essas particularidades, fica evidente a importância do conhecimento dos valores de referência para cada espécie, colaborando para que neonatos asininos e muares não sejam erroneamente tratados como equinos. No entanto, trabalhos sobre muares são escassos, principalmente para neonatos no primeiro mês de vida.

Da mesma forma, a avaliação do equilíbrio oxidativo neonatal, que pode estar relacionado com desequilíbrios homeostáticos e enfermidades, está bem documentada em humanos (SIES, 1991; ROBLES; PALOMINO; ROBLES, 2001), mas existem poucos relatos em algumas espécies de animais domésticos. Alguns trabalhos avaliaram os sistemas oxidativos e antioxidantes nos primeiros dias de vida em bezerros (GAÁL et al., 2006), leitões (YIN et al., 2013), ovelhas (SORIANO et al., 2015) e equinos (SGORBINI et al., 2015; SOUZA, 2016), porém na literatura consultada não foram encontrados trabalhos com muares.

Desta forma, devido à escassez de informações na literatura, o objetivo do presente estudo é avaliar a vitalidade e os parâmetros comportamentais dos muares ao nascimento, bem como os parâmetros laboratoriais e perfil oxidativo e antioxidante no primeiro mês de vida, comparando com os neonatos equinos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A presente revisão de literatura irá abordar de forma comparativa os parâmetros de vitalidade e comportamentais dos neonatos equídeos ao nascimento, assim como os parâmetros laboratoriais e perfil oxidativo nos primeiros meses de vida. Todos os valores de referência laboratoriais utilizados para esta revisão estão descritos no Apêndice 2.

2.1 AVALIAÇÃO NEONATAL

2.1.1 Avaliação de vitalidade e do comportamento do neonato equídeo

A transição da vida fetal para a neonatal é caracterizada por eventos fisiológicos e alterações anatômicas que se iniciam logo após o nascimento, e que culminam com a adaptação do neonato ao meio extrauterino. Assim, é de extrema importância o conhecimento da fisiologia, bem como a correta avaliação da vitalidade e do comportamento de cada espécie, a fim de identificar um neonato portador de anormalidades (ACWORTH, 2003; LOURENÇO; MACHADO, 2013).

O escore Apgar foi desenvolvido em Medicina Humana pela anestesiolegista norte-americana Virgínia Apgar em 1953, com o objetivo de avaliar o grau de asfixia neonatal por meio dos principais sinais vitais durante os primeiros minutos de vida (APGAR, 1953; PEREIRA et al., 1996).

Em Medicina Veterinária, o escore Apgar vem sendo adaptado para as diferentes espécies de animais domésticos (VASSALO et al., 2014). Na espécie equina, foi modificado por Knottenbelt; Holdstock; Madigan (2004), com o objetivo de avaliar o estado de depressão neonatal ao nascimento, através da inspeção direta, verificando frequência cardíaca (FC) e respiratória (FR), tônus muscular e reflexo de irritabilidade, pontuando de 0 a 2 cada parâmetro avaliado (Quadro 1). Os neonatos são classificados de acordo com a pontuação obtida, como: escore 7-8 neonato

normal; 4-6 moderada depressão; 1-3 marcadamente deprimido e 0 indica morte do neonato.

Quadro 1 - Escore Apgar modificado para espécie equina.

Parâmetros	0 ponto	1 ponto	2 pontos
FC	Ausente	< 60bpm	> 60bpm
FR	Ausente	Lenta / irregular	> 60mrpm regular
Tônus muscular	Flácido	Flexão das extremidades	Posição esternal
Estimulação nasal	Sem resposta	Movimento, reflexo facial	Espirro, rejeição ativa

FC: frequência cardíaca; FR: frequência respiratória; bpm: batimentos por minuto; mrpm: movimentos respiratórios por minuto

Fonte: (KNOTTENBELT; HOLDSTOCK; MADIGAN, 2004)

Segundo Vaala (1999), o escore Apgar é mais confiável quando utilizado nos neonatos no intervalo entre 5-15 minutos de vida, já para Palmer (2007) o ideal é ser feito com 1, 5 e 10 minutos após parto. Knottenbelt; Holdstock; Madigan (2004) descrevem classificação mais fidedigna quando avaliada de 1 a 3 minutos de vida. Sgorbini et al. (2009) realizaram um estudo avaliando a vitalidade dos neonatos asininos nos primeiros 10 minutos de vida, utilizando a classificação de: 7-8 normal; 4-6 moderada asfixia; 0-3 severa asfixia.

A literatura descreve a importância de avaliar a vitalidade associada ao comportamento neonatal equino após o parto, a fim de identificar um neonato anormal nos primeiros momentos da vida. O potro normal se posiciona em decúbito esternal em até 5 minutos, inicia reflexo de sucção em 2-20 minutos, levanta entre 1-2 horas e inicia a ingestão de colostro até 2 horas de vida. A maioria dos potros começa a eliminação de mecônio após a ingestão de colostro, variando entre 3-4 horas. Uma vez que todo mecônio for eliminado, as fezes mudam de aparência até 24 horas de vida, tornando-se macias e amareladas devido à ingestão de leite (STONEHAM, 2006; MCKINNON et al., 2011; MCCUE et al., 2017).

Em neonatos asininos, Sgorbini e colaboradores (2009) relataram o intervalo de tempo no qual neonatos saudáveis realizaram: decúbito esternal (1-5 minutos); reflexo de sucção (2-7 minutos); levantar (30-240 minutos); e mamar (60-312 minutos), demonstrando diferenças entre as espécies de equídeos.

2.1.2 Avaliação laboratorial

Uma atenção especial deve ser dada ao exame clínico e laboratorial dos recém-nascidos, uma vez que neonatos saudáveis apresentam mudanças fisiológicas significativas nas primeiras horas de vida (AXON; PALMER, 2008), e que diferem dos parâmetros encontrados nos adultos. Uma vez que estas diferenças não sejam levadas em consideração, o diagnóstico dos neonatos das diferentes espécies pode ser errôneo (BAUER et al., 1984; BARTON, 2015).

2.1.2.1 Hemograma, proteína e fibrinogênio

Durante a vida fetal, o fígado é o principal órgão responsável pela hematopoiese (JEFFCOTT; ROSSDALE; LEADON, 1982). Ao nascimento, devido à considerável transfusão de sangue da placenta ao potro, o hemograma normal de um neonato equino saudável apresenta alto hematócrito (40-52%) e hemoglobina (13,4-19,9 g/dL). No entanto, entre 12 e 24 horas de vida esses valores diminuem em aproximadamente 10%, ficando em torno de 32-46% e 12-16,6 g/dL, respectivamente (HARVEY, 1990; AXON; PALMER, 2008). Isso se dá provavelmente devido à hemodiluição, à destruição fisiológica de eritrócitos e queda na produção dos eritrócitos secundária à oxigenação sanguínea pelos pulmões logo após o nascimento (HARVEY et al., 1984).

Após duas semanas de vida esses valores diminuem ainda mais (29-41% e 10,9-15,3 g/dL, respectivamente) e se mantêm semelhantes aos encontrados em equinos adultos (HARVEY, 1990).

O volume corpuscular médio (VCM) possui valores baixos durante os primeiros 4 meses de vida, com grau de microcitose nesta fase, provavelmente associado à destruição fisiológica dos eritrócitos fetais. Posteriormente ocorre um aumento gradativo até 1 ano de idade, quando apresenta valores diferentes aos de adultos (JEFFCOTT; ROSSDALE; LEADON, 1982; BAUER et al., 1984). Já a

concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) se mantém praticamente constante após o nascimento (HARVEY et al., 1984; STONEHAM, 2006; AXON; PALMER, 2008).

Comparados com os neonatos equinos, os recém-nascidos asininos da raça Martina Franca possuem contagem de hemácias menor no primeiro dia de vida ($7,41-10,15 \times 10^6/\mu\text{L}$) e com sete dias ($7,1-7,8 \times 10^6/\mu\text{L}$), e hemoglobina ($12,9-17 \text{ g/dL}$) e hematócrito ($38,6-43,6\%$) levemente elevados. Os valores do VCM e CHCM ($40,7-49,3 \text{ fL}$ e $36,2-42,7\%$) são maiores nos asininos quando comparados aos equinos ($36-46 \text{ fL}$ e $32-40\%$) com 24 horas de vida (HARVEY, 1990; VERONESI et al., 2014). Este valor maior de VCM nos asininos persiste até a vida adulta, fazendo com que, mesmo com valores semelhantes de hemácias, esses animais tenham um hematócrito maior que os equinos de raças "sangue frio", embora os valores ainda sejam menores do que os encontrados nos equinos de raças "sangue quente" (SCHALM, 1961; KRAMER, 2006).

Ainda no hemograma, observamos valores constantes das plaquetas durante o primeiro ano de vida nos neonatos equinos e asininos (HARVEY, 1990; SGORBINI et al., 2013; VERONESI et al., 2014).

Em relação à avaliação da série branca, devido à resposta ao cortisol no momento do parto, os neutrófilos segmentados dos neonatos equinos estão aumentados ($5,55-12,38 \times 10^3/\mu\text{L}$) dentro dos primeiros 30 minutos de vida. Após 24 horas diminuem ($3,36-9,57 \times 10^3/\mu\text{L}$) e permanecem assim até os seis meses. No feto, a contagem de linfócitos é alta ($>3 \times 10^3/\mu\text{L}$), porém ocorre um decréscimo poucas horas após o nascimento, sendo que com 12 horas de vida o intervalo é de $0,46-2,54 \times 10^3/\mu\text{L}$ e, gradativamente, os valores aumentam ($1,73-4,85 \times 10^3/\mu\text{L}$ com 30 dias) até os três meses de vida. Os eosinófilos são ausentes ao nascimento, porém apresentam um pequeno aumento no primeiro mês de vida ($0-0,12 \times 10^3/\mu\text{L}$) devido à possíveis exposições a parasitas ou agentes alérgicos durante a vida. A contagem de monócitos e basófilos não apresenta alteração durante o primeiro ano de vida (HARVEY, 1990; STONEHAM, 2006; AXON; PALMER, 2008; GRONDIN; DEWITT, 2010).

Para asininos, os valores de neutrófilos segmentados ao nascimento ($3,6-7,6 \times 10^3/\mu\text{L}$), 1 ($2,9-6,7 \times 10^3/\mu\text{L}$) e 7 dias ($4,6-7,7 \times 10^3/\mu\text{L}$) de vida são menores do que nos equinos, e os linfócitos aumentam a partir do parto ($0,82-2,1 \times 10^3/\mu\text{L}$) até 7 dias ($2,1-3,4 \times 10^3/\mu\text{L}$) de vida (VERONESI et al., 2014). A contagem dos monócitos é

inferior aos 7 dias ($0,2-0,35 \times 10^3/\mu\text{l}$), diferindo de eosinófilos ($0,03-0,11 \times 10^3/\mu\text{l}$) e basófilos ($0,02-0,08 \times 10^3/\mu\text{l}$) que possuem maiores valores em asininos do que em equinos (HARVEY, 1990; VERONESI et al., 2014).

Sabe-se que a relação neutrófilo:linfócito (N:L) logo após o parto é indicador efetivo de maturidade para os potros equinos, sendo que neutropenia e relação N:L menor do que 1:1 indica incompleta maturação da glândula adrenal (LESTER, 2005). Nos asininos, essa relação foi mostrada por Sgorbini e colaboradores (2009), onde a contagem total dos leucócitos, neutrófilos e linfócitos foi menor quando comparada aos equinos e a média da relação N:L encontrada nos recém-nascidos saudáveis foi de 2,10.

Considerando os eventos pós nascimento, com a ingestão de colostro ocorre o aumento das globulinas, que consequentemente refletem no aumento dos níveis da proteína plasmática total. Assim, quando avaliados ao nascimento, os neonatos equinos ($4,4-5,9 \text{ g/dL}$) e asininos ($3,2-6,6 \text{ g/dL}$) possuem valores inferiores aos de adultos, porém após a ingestão do colostro ocorre um aumento das concentrações, tanto nos equinos ($5,2-8,0 \text{ g/dL}$) como nos asininos ($3,7-6,7 \text{ g/dL}$) (HARVEY, 1990; WILKINS, 2011; VERONESI et al., 2014). Porém os valores de albumina não sofrem alteração durante os primeiros meses de vida (GIRARDI et al., 2016).

Já a concentração de fibrinogênio é menor nos equinos ao nascimento ($100-500 \text{ mg/dL}$) quando comparados aos valores dos adultos (JEFFCOTT; ROSSDALE; LEADON, 1982; HARVEY, 1990). Não encontramos na literatura pesquisada valores para neonatos asininos ao nascimento.

2.1.2.2 Eletrólitos séricos

As concentrações dos eletrólitos séricos nos neonatos equinos apresentam valores semelhantes durante os primeiros seis meses de vida. Quando ocorre no recém-nascido qualquer alteração eletrolítica, provavelmente é reflexo de alguma disfunção placentária, alteração no ambiente uterino, ou está associado a insuficiência renal ou doença gastrointestinal. A concentração de ferro ao nascimento nos equinos é alta ($3,45-5,92 \text{ mg/L}$), tendo uma rápida diminuição até os três dias de vida ($0,30-2,73 \text{ mg/L}$ aos 7 dias), atingindo em seguida os valores

similares aos adultos (HARVEY, 1990; AXON; PALMER, 2008; WILKINS, 2011). A concentração de cálcio, provavelmente associada à atividade placentária, encontra-se 25-30% mais alta ao nascimento quando comparado aos parâmetros de adultos (WOODING et al., 2000; AXON; PALMER, 2008). Após algumas horas do nascimento, ocorre um decréscimo até atingir valores 20% menores do que os valores normais de adultos, e gradualmente os níveis aumentam nos primeiros dias de vida (WILKINS, 2011). Já a concentração de fósforo é similar a dos adultos ao nascimento e aumenta gradativamente nas primeiras oito semanas, provavelmente pelo metabolismo ósseo neste período (BAUER et al., 1984; WILKINS, 2011). Em relação aos níveis séricos de sódio, podem estar baixos nas primeiras 48 horas de vida, relacionado provavelmente à hemodiluição fisiológica, que ocorre após a absorção das imunoglobulinas colostrais pelo neonato (BAUER et al., 1984).

Quando mensuradas em neonatos asininos, os valores eletrolíticos de cálcio, magnésio, sódio e cloro foram constantes pelas primeiras três semanas, não apresentando valores diferentes dos encontrados nos neonatos equinos (SGORBINI et al., 2013; VERONESI et al., 2014).

2.1.2.3 Glicose e lactato

Ao nascimento, a concentração de glicose no potro é de 50-60% dos valores maternos (54-63 mg/dL), permanecendo baixa nas primeiras 4 horas de vida, até que se inicie a nutrição enteral como fonte de glicose e a gliconeogênese (PALMER, 2006).

A partir dos dois dias de vida, as concentrações se encontram elevadas (121-192 mg/dL aos 7 dias), em geral maiores do que nos adultos, por razão da ingestão constante de leite até dois a três meses de vida (HARVEY, 1990; KNOTTENBELT; HOLDSTOCK; MADIGAN, 2004; WILKINS, 2011). Nos asininos observa-se valor superior ao nascimento (60-134 mg/dL), e após 24 horas até 2 meses as concentrações se assemelham aos equinos da mesma idade (BAUER et al., 1984; KNOTTENBELT; HOLDSTOCK; MADIGAN, 2004; SGORBINI et al., 2013; VERONESI et al., 2014).

Nos neonatos, é de extrema importância a mensuração do lactato, uma vez que pode indicar redução da perfusão e até falta de oxigenação tecidual, doença intercorrente, exposição a medicamentos ou toxinas, alterações metabólicas congênitas ou inflamação com ativação do catabolismo proteico, como em casos de septicemia (FRANKLIN, 2007; AXON; PALMER, 2008; TENNENT-BROWN, 2014). A alta concentração após nascimento pode ocorrer de maneira fisiológica como reflexo do cortisol e das catecolaminas do parto, ou pela hipóxia fisiológica do feto ao nascer, com queda após 24 horas (ROSSDALE et al., 1984). Nos equinos, observamos concentrações de $3,8 \pm 1,9$ e $2,1 \pm 0,8$ mmol/L, ao nascimento e com 24 horas respectivamente; enquanto nos asininos, $5,49 \pm 1,36$ e $1,47 \pm 0,39$ (CASTAGNETTI et al., 2010; VERONESI et al., 2014). Em caso de neonatos doentes, a concentração sérica de lactato fornece informações prognósticas importantes, sendo clinicamente relevante nos cuidados neonatais de equinos (CORLEY; DONALDSON; FURR, 2005).

2.1.2.4 Ureia e creatinina

Ao nascimento em equinos, a ureia apresenta valores dentro do intervalo esperado para adultos (21-24 mg/dL), diminuindo entre o terceiro dia até a oitava semana de vida (4-20 mg/dL aos 7 dias; 6-21 mg/dL aos 30 dias; 15-30 mg/dL aos 6 meses). Acredita-se que esta diminuição seja causada por um aumento na demanda de aminoácidos para síntese proteica. Já a concentração de creatinina é fisiologicamente elevada ao nascimento (1,7-4,19 mg/dL) e atinge valores semelhantes aos de adultos entre 24 e 36 horas após nascimento (1,2-2,8 mg/dL). Essa queda provavelmente está relacionada à depuração endógena da creatinina pela urina (BAUER et al., 1984; HARVEY, 1990; KNOTTENBELT; HOLDSTOCK; MADIGAN, 2004; CHANEY et al., 2010).

Em asininos a concentração de ureia ao nascimento se apresenta similar aos adultos (24-52 mg/dL), ocorrendo um declínio fisiológico com 24 horas (24-42 mg/dL; 20-36 mg/dL com 48 horas) e permanece constante até dois meses de vida, quando retorna as concentrações iniciais. A creatinina também tem valores aumentados ao nascimento (1,7-3,1 mg/dL), mantendo o mesmo padrão de declínio rápido com 24

horas de vida (1,0-1,6 mg/dL), porém atinge o valor de adulto mais rápido do que os neonatos equinos (SGORBINI et al., 2013; VERONESI et al., 2014).

2.1.2.5 Avaliação hepática e muscular

Em relação aos exames laboratoriais para avaliação hepática, utilizamos na rotina as mensurações: bilirrubina total (BT), bilirrubina direta (BD), bilirrubina indireta (BI), aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FA) e gama glutamiltransferase (GGT).

Nos recém-nascidos, logo após o parto, ocorre uma rápida taxa de *turnover* das hemácias fetais, que causam um aumento da bilirrubina indireta e consequentemente uma hiperbilirrubinemia na primeira semana de vida, sendo 0,8-3,0 mg/dL o valor de referência dos equinos aos 7 dias (BAUER; ASQUITH; KIVIPELTO, 1989; WILKINS, 2011); além disso, existe uma disponibilidade reduzida de proteína ligante à bilirrubina, que é responsável pela captação hepatocelular da bilirrubina. Após esse período, as concentrações decrescem e aos 30 dias os níveis estão entre 0,5-1,7 mg/dL, atingindo valores encontrados em adultos. Em asininos a concentração de bilirrubina total é menor no nascimento (0,12-0,39 mg/dL) quando comparado aos equinos, apresentando valor dentro do intervalo esperado para jumentos adultos (ALESSANDRO et al., 2012; VERONESI et al., 2014).

A FA é marcadamente elevada na primeira semana de vida dos neonatos equinos e asininos devido à alta atividade osteoblástica nos ossos em crescimento, desenvolvimento intestinal e pinocitose durante as primeiras 24 horas de vida (861-2671 com 24 hrs). Esses níveis, nas duas espécies, diminuem gradualmente até atingir valores semelhantes aos de adultos às 4 semanas de vida (210-866 e 323-421 UI/L, respectivamente) (WILKINS, 2011; SGORBINI et al., 2013; VERONESI et al., 2014).

Em relação à GGT e AST, os níveis são transitoriamente elevados entre cinco e 14 dias de vida, provavelmente devido à maturação hepatocelular iniciada após o nascimento. Antes dos cinco dias e após os 14 dias os neonatos apresentam valores de indivíduos adultos (VAALA, 1994; BARTON; LEROY, 2007). Porém, de acordo

com Wilkins (2011), a AST apresenta aumento das concentrações após sete dias de vida (237-620 UI/L) devido ao aumento da atividade muscular.

Como indicador bioquímico da função muscular, a concentração da CK pode ter um leve aumento nas primeiras 24 horas de vida, sendo o intervalo de referência em equinos de 40 a 909 UI/L. Este aumento pode ocorrer em alguns indivíduos em decorrência de possíveis traumas ou dificuldade no momento parto (HARVEY, 1990; VAALA, 1994; WILKINS, 2011).

Na literatura, conforme descrito por Sgorbini et al. (2013) e Veronesi et al. (2014), os valores de AST nos neonatos asininos são semelhantes aos equinos, entretanto, até dois meses o valor não se equiparou com os níveis encontrados em adultos, diferindo dos cavalos. Em relação à GGT os valores são semelhantes nas duas espécies, e os valores de CK permaneceram inferiores aos padrões de adultos durante os dois primeiros meses de vida, também diferindo da espécie equina.

2.1.2.6 Colesterol e triglicérides

As concentrações de colesterol e triglicérides nos neonatos equinos encontram-se elevadas nas primeiras duas semanas de vida, sendo que valores maiores de triglicérides neste período podem indicar imaturidade hepática ao nascimento (AXON; PALMER, 2008).

Na avaliação dos níveis séricos nos neonatos asininos, Sgorbini et al. (2013) não observaram diferença entre os tempos, porém quando comparados aos parâmetros dos equinos, apesar dos níveis de triglicérides serem semelhantes, os níveis de colesterol são mais altos nos asininos. Com 24 horas de vida, os valores de referência do colesterol para equinos e asininos são 96-135 e 129-193 mg/dL, respectivamente (KNOTTENBELT; HOLDSTOCK; MADIGAN, 2004; SGORBINI et al., 2013).

2.1.3 Perfil oxidativo e antioxidante neonatal

O parto dos mamíferos é caracterizado por uma transição súbita do ambiente intrauterino, para uma condição extrauterina. Considerando os acontecimentos fisiológicos dos neonatos nas primeiras horas de vida, é importante ressaltar que ocorrem eventos de adaptação para cada espécie. Qualquer alteração destes mecanismos pode desencadear o estresse oxidativo, que reflete o desequilíbrio entre a capacidade de produção das espécies reativas de oxigênio (EROs) e espécies reativas de nitrogênio (ERNs), com a capacidade de eliminação destas espécies por meio dos sistemas antioxidantes (LÁZÁR, 2012). As espécies reativas em excesso interagem com as células causando lesões oxidativas, principalmente em moléculas como lipídios, proteínas e DNA (HUSSAIN; HOFSETH; HARRIS, 2003).

Existem dois grupos de EROs, os radicalares: hidroxila (OH^-), superóxido (O_2^-), peroxila (ROO) e alcóxila (RO); e os não-radicalares: oxigênio (O_2), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e ácido hipocloroso. Nas ERNs, incluem-se: óxido nítrico (NO), óxido nitroso (N_2O_3), ácido nitroso (HNO_2), nitritos (NO_2^-), nitratos (NO_3^-) e peroxinitritos (ONOO^-) (HALLIWELL, 1999).

As EROs e as ERNs estão presentes em todos os organismos que vivem em ambiente aeróbico (AZIZ et al., 2010), geradas como produto do metabolismo oxidativo aeróbico (AITKEN; BAKER, 2004). A produção contínua e fisiológica de radicais livres nos processos metabólicos ativa o mecanismo de defesa antioxidante do organismo (BIANCHI; ANTUNES, 1999).

O mecanismo de defesa antioxidante enzimático é conhecido por três sistemas: o primeiro é composto pela enzima superóxido dismutase (SOD), que catalisa a dismutação do radical superóxido (O_2^-) que recebe íons de hidrogênio, convertendo em oxigênio e peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Existem dois tipos de SOD no organismo, sendo que a primeira pode ser encontrada no citoplasma, dependente de cobre e zinco, porém sua atividade não é afetada pelo estresse oxidativo; e a segunda dependente do manganês como cofator, ocorrendo na mitocôndria, sendo que sua atividade aumenta o estresse oxidativo (BABIOR, 1997; FERREIRA; MATSUBARA, 1997). O segundo sistema enzimático é formado pela enzima catalase, sendo este mais simples pois atua realizando a dismutação do H_2O_2 em oxigênio e água. E o terceiro sistema é realizado pela glutatona em conjunto com duas enzimas, a glutatona peroxidase (GPx) e a glutatona redutase,

na presença de selênio, atuando também para catalisar a dismutase do H_2O_2 em água e oxigênio (BARREIROS; DAVID, 2006).

A GPx e a catalase tem o objetivo de impedir o acúmulo de peróxido de hidrogênio. Esta espécie reativa, por meio das reações de Fenton e Haber-Weiss, geram o radical hidroxila, considerado o radical com maior potencial reativo, sendo desencadeador de danos oxidativos. Além disso, esse radical é capaz de iniciar o processo de peroxidação lipídica, resultando em uma alteração da função biológica das membranas celulares e das proteínas, além de atacar diretamente o DNA (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; WELCH et al., 2002).

Dentre os antioxidantes biológicos de baixo peso molecular, destaca-se a bilirrubina, a ubiquinona, os carotenóides e o ácido úrico (BABIOR, 1997).

A bilirrubina possui propriedades pró e antioxidantes, porém em condições fisiológicas normais predomina seu papel antioxidante (ASAD et al., 2001), que ocorre a partir da redução da biliverdina para bilirrubina, mediada pela biliverdina redutase. A oxidação contrária ocorre a partir do peróxido de hidrogênio, formando um ciclo antioxidante catalítico (SEDLAK; SNYDER, 2004). Sabe-se que a bilirrubina é altamente lipofílica, protegendo as membranas celulares da peroxidação lipídica, conforme demonstrado por Sedlak e colaboradores (2009), que observaram aumento da peroxidação lipídica associado à diminuição da bilirrubina.

Atualmente, na Medicina Humana, muitos trabalhos descrevem os aspectos dos processos oxidativos e antioxidantes no período gestacional, placenta, parto e nos neonatos (ROBLES; PALOMINO; ROBLES, 2001; MALTI et al., 2014; MARSEGLIA et al., 2014; OZSUREKCI; AYKAC, 2016). Porém sabe-se que o desequilíbrio oxidativo pode estar relacionado ao desenvolvimento de algumas doenças, como: diabetes, câncer, processos inflamatórios, obesidade, doenças cardiovasculares, neurológicas e respiratórias, dentre outras (SIES, 1991).

Em Medicina Veterinária poucos são os trabalhos com esse enfoque. Yin et al. (2013) descrevem em neonatos suínos um sistema antioxidante prematuro ao nascimento, que atinge seu equilíbrio oxidativo aos 7 dias de vida; corroborando com isso, Gaál et al. (2006) observaram uma diminuição gradativamente lenta dos EROs entre os dias 3-7 de vida em bezerros.

Em ovinos, os autores relatam um desequilíbrio oxidativo nos neonatos no primeiro dia de vida, provavelmente desencadeado pelo parto, e estabilizado após cinco dias (SORIANO et al., 2015).

Nos equinos, Sgorbini e colaboradores (2015) demonstraram que os neonatos apresentaram um menor potencial antioxidante quando comparados as mães. Já Souza (2016) observou aumento no sistema antioxidante às 12 horas de vida dos potros equinos, sugerindo esta ativação em resposta aos níveis da peroxidação lipídica.

3 HIPÓTESE

Nossas hipóteses são:

- ✓ Os potros muares ao nascimento apresentam diferenças quando comparados aos equinos no escore Apgar e nos comportamentos de adaptação;
- ✓ Os parâmetros hematológicos e bioquímicos no primeiro mês de vida são diferentes entre os neonatos muares e equinos;
- ✓ Existe diferença no perfil oxidativo e antioxidante entre neonatos muares e equinos no primeiro mês de vida.

4 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral desse estudo foi avaliar os neonatos muares, comparando com equinos nos parâmetros:

- ✓ vitalidade e comportamentos de adaptação logo após nascimento;
- ✓ laboratoriais durante o primeiro mês de vida;
- ✓ perfil oxidativo e antioxidante durante o primeiro mês de vida.

5 ARTIGO I – AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL E VITALIDADE DO NEONATO MUAR AO NASCIMENTO: UM COMPARATIVO COM EQUINOS.

RESUMO

A avaliação da vitalidade associada ao comportamento após o parto é fundamental para o monitoramento neonatal e identificação de um neonato anormal de forma precoce. O objetivo deste trabalho foi avaliar os neonatos muares logo após o nascimento, comparando-os com os equinos, nos seguintes parâmetros: comportamento e vitalidade; tempo para delivramento dos anexos fetais das éguas gestantes de muares e equinos; peso dos neonatos e dos anexos fetais, bem como a relação entre eles nos muares. Foram acompanhados 47 partos, sendo 30 de muares e 17 de equinos. Avaliou-se a vitalidade a partir do escore Apgar modificado ao nascimento, com 5, 10, 30 e 60 minutos pós-parto, além dos comportamentos (tempo para se posicionar em decúbito esternal, iniciar reflexo de sucção, levantar, iniciar ingestão de colostro e eliminar o mecônio) e a necessidade de realização de enema. Observou-se o tempo de delivramento e peso dos anexos fetais e dos potros. A relação entre peso dos potros e dos anexos fetais foi calculada no grupo dos muares. Houve diferença entre os grupos no escore Apgar ao nascimento, 5, 10 e 30 minutos de vida, sendo maior nos muares ($7,83 \pm 0,09$; $7,9 \pm 0,05$; $7,9 \pm 0,05$; 8) do que nos equinos ($7,40 \pm 0,21$; $7,40 \pm 0,21$; $7,46 \pm 0,19$; $7,8 \pm 0,10$). Não houve diferença entre muares e equinos para decúbito esternal ($1 \pm 0,26$ e $1,06 \pm 0,40$ minutos), iniciar reflexo de sucção ($8,13 \pm 1,61$ e $14,26 \pm 4,16$ minutos) e levantar ($26,26 \pm 1,38$ e $32,2 \pm 3,08$ minutos). O início da ingestão de colostro foi significativamente diferente entre os muares ($49,3 \pm 2,71$ minutos) e os equinos ($81,86 \pm 8,41$ minutos), bem como a eliminação de mecônio ($255,86 \pm 18,14$ e $76,66 \pm 7,79$ minutos, respectivamente). Utilizou-se enema em 11/30 muares e 1/17 equinos que apresentaram desconforto. O tempo de delivramento dos anexos fetais em éguas gestantes de luar ($38,32 \pm 5,12$ minutos) foi menor que nas gestantes de equinos ($52 \pm 4,46$ minutos). Não houve diferença entre os pesos dos muares ($41,92 \pm 0,79$ Kg) e equinos ($45,12 \pm 1,7$ Kg), bem como nos pesos dos anexos fetais ($4,12 \pm 0,14$; $4,17 \pm 0,49$ Kg, respectivamente). Não houve correlação entre os pesos dos neonatos e anexos fetais dos muares. Assim os resultados deste trabalho mostraram de forma inédita

diferenças significativas nos parâmetros de vitalidade e comportamentais de neonatos muares e equinos, bem como no tempo de delivramento dos anexos em éguas prenhes de muares e equinos.

Palavras-chave: Mula. Apgar. Parâmetro etológico. Comportamento. Híbrido.

ARTICLE I - BEHAVIORAL EVALUATION AND VITALITY OF NEWBORN MULES AT BIRTH: A COMPARISON WITH EQUINE.

ABSTRACT

Evaluation of the postpartum behavior is of utmost importance for neonatal monitoring and early identification of an abnormal neonate. The aim of the present study was to evaluate newborn mules at birth, and compare with equine regarding the following parameters: behavior and vitality; time for fetal membrane elimination in mares pregnant with mules and horses, neonatal and placental weight and relationship between mule and placental weight. Forty-seven neonates were used, 30 mules and 17 horses. Apgar score at birth, 5, 10, 30 and 60 minutes postpartum and behavioral traits (time to sit in sternal recumbency, to suckle reflex, to stand, to ingest colostrum and to eliminate meconium) and the need of enema were evaluated. Time for placental elimination and placental and foal weight were recorded. The relationship between placental and foal weight was calculated for the mule's group. Apgar score at birth, 5, 10 and 30 minutes was higher in mules (7.83 ± 0.09 ; 7.9 ± 0.05 ; 7.9 ± 0.05 ; 8) than horses (7.40 ± 0.21 ; 7.40 ± 0.21 ; 7.46 ± 0.19 ; 7.8 ± 0.10). There was no difference between groups in times to sit in sternal recumbency (1 ± 0.26 and 1.06 ± 0.40 minutes), to start the suckle reflex (8.13 ± 1.61 and 14.26 ± 4.16 minutes) and to stand (26.26 ± 1.38 and 32.2 ± 3.08 minutes). Ingestion of colostrum was significantly different between mules (49.3 ± 2.71 minutes) and horses (81.86 ± 8.41 minutes), as well as meconium elimination (255.86 ± 18.14 and 76.66 ± 7.79 minutes, respectively). We used enema in 11/30 mules and 1/17 horses that presented signs of discomfort. Mares pregnant with mules (38.32 ± 5.12 minutes) eliminated fetal membranes earlier than pregnant with horses (52 ± 4.46 minutes). There was no difference between foal's weight for mules (41.92 ± 0.79 Kg) and horses (45.12 ± 1.7 Kg), as well as placental weight (4.12 ± 0.14 ; 4.17 ± 0.49 Kg, respectively). There was no correlation between placental and foal's weight for mules. Thus, the results of this study showed for the first time significant differences and similarities between mule and horse neonates regarding behavioral and vitality parameters, as well as the time of fetal membrane elimination in mares pregnant with mule and horse.

Keywords: Mule. Apgar. Ethological parameters. Behavior. Hybrid.

5.1 INTRODUÇÃO

O período neonatal é a fase de transição da vida fetal para a extrauterina (BAUER et al., 1984). Nos equinos, apesar de existirem muitos períodos considerados por diferentes autores, sabe-se que os primeiros 4 dias de vida são críticos devido ao estabelecimento da homeostase (BRINSKO et al., 2011) e durante o primeiro mês de vida o potro requer atenção especial, uma vez que afecções multissistêmicas são frequentes neste período (PIERCE, 2003).

Para o monitoramento neonatal, a literatura descreve a avaliação da vitalidade associada ao comportamento após o parto, a fim de identificar um neonato anormal nos primeiros momentos da vida (STONEHAM, 2006). Para vitalidade utiliza-se o escore Apgar, desenvolvido inicialmente na Medicina Humana, pela anestesiolegista Virgínia Apgar, com a finalidade de avaliar o grau de asfixia neonatal (APGAR, 1953). Em equinos e asininos foi desenvolvido um escore Apgar modificado, que classifica o estado de depressão neonatal após o parto. Nele avalia-se: frequência cardíaca e respiratória, tônus muscular e reflexo de irritabilidade (KNOTTENBELT; HOLDSTOCK; MADIGAN, 2004; SGORBINI et al., 2009).

As adaptações neurológicas se iniciam no momento em que o feto atravessa o canal do parto, onde imediatamente após a segunda fase do parto, eventos como posicionar-se em decúbito esternal, iniciar reflexo de sucção, levantar e mamar são adaptações necessárias. Esses parâmetros comportamentais são consagrados na literatura para equinos (VAALA, 1994; ACWORTH, 2003; KNOTTENBELT; HOLDSTOCK; MADIGAN, 2004; MCCUE et al., 2017) e asininos (SGORBINI et al., 2009), porém não existem relatos da utilização de parâmetros comportamentais e escores de avaliação de vitalidade para os muare.

Neonatos muare saudáveis e geneticamente superiores estão cada vez mais valorizados, uma vez que adultos apresentam alto potencial para trabalho e atividades atléticas por serem animais mais rústicos, inteligentes e menos reativos quando comparado aos equinos e asininos. Além disso, atualmente existe uma maior participação destes animais em categorias esportivas e lazer (OLIVEIRA, 2011; MENEZES et al., 2013; FARIAS, 2014).

Assim, o objetivo deste trabalho é avaliar os neonatos muares logo após o nascimento, comparando-os com os equinos, nos seguintes parâmetros: (1) vitalidade a partir do escore Apgar modificado; (2) comportamento, avaliando tempo para se posicionar em decúbito esternal, levantar, iniciar ingestão de colostro e eliminação de mecônio; (3) peso dos neonatos ao nascimento e dos anexos fetais, bem como a relação entre eles; (4) tempo para delivramento dos anexos fetais das éguas gestantes de muares e equinos.

5.2 MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi aprovado e desenvolvido conforme as diretrizes da Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, sob o protocolo número 6001260715.

5.2.1 Animais

Os dados foram coletados em duas estações de nascimento (2015/2016 e 2016/2017), onde foram monitoradas 47 éguas, em um haras localizado em Piracaia/SP – Brasil (Latitude: 23° 03' 14" S, Longitude: 46° 21' 29" W). Dessas éguas, 30 estavam prenhes de muares e 17 de equinos. As éguas foram mantidas durante toda gestação em pasto *tifton*, com acesso a água e sal mineral *ad libitum*. Todos os partos foram acompanhados e os critérios de inclusão utilizados foram: éguas saudáveis e neonatos provenientes de eutocia.

As éguas foram acompanhadas diariamente a partir dos 320 dias de gestação para observação de mudanças associadas ao parto (relaxamento do ligamento sacroisquiático e vulvar, e desenvolvimento da glândula mamária), além da avaliação do pH da secreção mamária, conforme descrito por Canisso et al. (2013), utilizando um teste de tira colorimétrico (intervalo de detecção de pH variando de 5,5 a 8 unidades; 8-Hydrion, *Micro Essential Laboratory*, EUA). As éguas foram continuamente monitoradas quando apresentaram sinais de parto iminente,

associados à informação do decréscimo do pH da secreção mamária. O piquete maternidade era plano, com iluminação reduzida no período noturno, sem trânsito de pessoas e veículos. Desta forma, todas as fases do parto dos animais incluídos no experimento foram acompanhadas.

5.2.2 Avaliação da Vitalidade e Comportamento Neonatal

A avaliação da vitalidade foi realizada utilizando o escore Apgar modificado por Knottenbelt; Holdstock; Madigan (2004) no momento do nascimento, 5, 10, 30 e 60 minutos (T0, T5, T10, T30 e T60, respectivamente) pós parto. Foram analisados: frequência cardíaca (FC) e respiratória (FR), tônus muscular e irritabilidade reflexa por estimulação nasal, pontuando cada parâmetro de 0 a 2, conforme apresentado no Quadro 2.

Quadro 2 - Escore Apgar modificado para a espécie equina.

Parâmetros	0 ponto	1 ponto	2 pontos
FC	Ausente	< 60bpm	> 60bpm
FR	Ausente	Lenta / irregular	> 60mrpm regular
Tônus muscular	Flácido	Flexão das extremidades	Posição esternal
Estimulação nasal	Sem resposta	Movimento, reflexo facial	Espirro, rejeição ativa

Escore 7-8: normal; 4-6: moderada depressão; 1-4: marcadamente deprimido; 0: morte do neonato
FC: frequência cardíaca; FR: frequência respiratória; bpm: batimentos por minuto; mrpm: movimentos respiratórios por minuto

Fonte: (KNOTTENBELT; HOLDSTOCK; MADIGAN, 2004)

Imediatamente após a expulsão do neonato foram observados os tempos para permanecer em decúbito esternal, iniciar o reflexo de sucção, levantar, iniciar a ingestão de colostro e a eliminação de mecônio, bem como a necessidade de realização de enema (Fleet Enema®) em animais que apresentaram sinais de desconforto abdominal (rolar, cavar, olhar para o abdômen).

5.2.3 Delivramento dos Anexos Fetais, Peso dos Neonatos e dos Anexos Fetais

O tempo para delivramento dos anexos fetais dos dois grupos foi avaliado e o peso total dos anexos foi obtido em balança convencional (digital, capacidade de 100 gramas a 150 quilogramas, EB821, Rahda®, Brasil).

Após ingestão de colostro os neonatos também foram pesados no colo do técnico em balança convencional (digital, capacidade de 100 gramas a 150 quilogramas, EB821, Rahda®, Brasil). Assim o peso real do neonato foi calculado subtraindo o peso do técnico. A proporção do peso dos neonatos em relação aos anexos fetais foi calculada posteriormente, dividindo os dois pesos (neonato/anexo).

5.2.4 Análise Estatística

Foi utilizado o programa *SAS System for Windows 9.3* (SAS, 2000) para análise dos dados. Previamente, os dados foram testados quanto à normalidade dos resíduos (distribuição de Gauss) e homogeneidade das variâncias. Quando não obedeciam às premissas, os dados eram transformados (logarítmo na base 10) e se a normalidade não era obtida, empregava-se, então, um procedimento não paramétrico.

A comparação das médias foi realizada pelo teste t de *Student* para variáveis paramétricas e pelo teste de Wilcoxon para variáveis não paramétricas.

A avaliação do efeito do tempo (T0, T5, T10, T30 e T60) sobre a variável Apgar foi realizada através de medidas repetidas no tempo pelo PROC MIXED e as médias foram submetidas ao teste de Wilcoxon para variáveis não paramétricas.

Além disso, foi realizada análise de correlação de Pearson entre as variáveis peso dos anexos fetais e peso dos neonatos no grupo mular.

O nível de significância utilizado para rejeitar H0 (hipótese de nulidade) para todas as variáveis foi de 5%. Os resultados foram apresentados por médias (médias $\pm$ erro padrão da média) dos dados originais.

5.3 RESULTADOS

5.3.1 Avaliação da Vitalidade e Comportamento Neonatal

Os resultados das avaliações de vitalidade feitas a partir do escore Apgar modificado nos grupos de neonatos muares e equinos estão representados na Tabela 1. Houve efeito de grupo no nascimento, com 5, 10 e 30 minutos de vida (T0, T5, T10, T30). Já aos 60 minutos (T60) os dois grupos apresentam valores estatisticamente iguais.

Tabela 1 - Média $\pm$ erro padrão do escore Apgar modificado durante a primeira hora de vida nos neonatos muares e equinos.

VARIÁVEIS	GRUPOS		VALOR DE P
	MUAR	EQUINO	
T0	7,83 $\pm$ 0,09	7,4 $\pm$ 0,21	0,02
T5	7,9 $\pm$ 0,05	7,4 $\pm$ 0,21	0,01
T10	7,9 $\pm$ 0,05	7,46 $\pm$ 0,19	0,01
T30	8	7,8 $\pm$ 0,1	0,01
T60	8	7,9 $\pm$ 0,06	0,17

T0: nascimento; T5: 5 minutos; T10: 10 minutos; T30: 30 minutos; T60: 60 minutos

p < 0,05 na mesma linha indica diferença significativa

Fonte: (RICCIO, 2017)

As médias $\pm$ erro padrão dos tempos aferidos de cada avaliação comportamental em muares e equinos estão demonstradas na Tabela 2. Foi observado efeito de grupo para iniciar ingestão de colostro (p<0,0001) e iniciar eliminação de mecônio (p<0,0001).

Tabela 2 - Média $\pm$ erro padrão dos tempos para decúbito esternal (DE), iniciar reflexo de sucção (RS), levantar (L), iniciar ingestão de colostro (C) e iniciar eliminação de mecônio (M) dos grupos muar e equino, cronometrados a partir da expulsão completa do neonato no momento do parto.

VARIÁVEIS	GRUPOS		VALOR DE P
	MUAR	EQUINO	
DE (min)	1 $\pm$ 0,26	1,06 $\pm$ 0,4	0,79
RS (min)	8,13 $\pm$ 1,61	14,26 $\pm$ 4,16	0,74
L (min)	26,26 $\pm$ 1,38	32,2 $\pm$ 3,08	0,09
C (min)	49,3 $\pm$ 2,71	81,86 $\pm$ 8,41	< 0,0001
M (min)	255,86 $\pm$ 18,14	76,66 $\pm$ 7,79	< 0,0001

p < 0,05 na mesma linha indica diferença significativa

Fonte: (RICCIO, 2017)

Dos animais analisados, 11/30 muares e 1/17 equinos (p=0,0063) apresentaram desconforto, assim foi realizado enema com medicação comercial (Fleet Enema®), conforme demonstrado no Gráfico 1.

Gráfico 1 - Utilização de medicação comercial laxativa (Fleet Enema®) nos neonatos muares e equinos.

p=0,0063

Fonte: (RICCIO, 2017)

5.3.2 Delivramento dos Anexos Fetais, Peso dos Neonatos e dos Anexos Fetais

Para o tempo de delivramento dos anexos fetais houve efeito de grupo (p=0,04), sendo observado o tempo de 38,32 $\pm$ 5,12 minutos para o grupo muar e 52 $\pm$ 4,46 minutos para o grupo equinos.

Não houve efeito de grupo para o peso dos neonatos, bem como para o peso dos anexos fetais, conforme descrito na Tabela 3.

Tabela 3 - Média $\pm$ erro padrão dos pesos dos neonatos nas primeiras horas de vida após ingestão de colostro, e dos anexos fetais após delivramento nos grupos muar e equino.

PESO	GRUPO		VALOR DE P
	MUAR	EQUINO	
NEONATOS (Kg)	41,92 $\pm$ 0,79	45,12 $\pm$ 1,7	0,07
ANEXOS FETAIS (Kg)	4,12 $\pm$ 0,14	4,17 $\pm$ 0,49	0,90

$p < 0,05$ na mesma linha indica diferença significativa

Fonte: (RICCIO, 2017)

A relação entre o peso dos anexos fetais e peso dos neonatos muares está demonstrada no Gráfico 2. Não observamos correlação entre as duas variáveis ($r=0,60$ e $p=0,39$), porém houve uma concentração dos animais apresentando uma relação de 9-11% entre os pesos do neonato e anexo fetal (Apêndice 1).

Gráfico 2 - Relação entre o peso dos neonatos e o peso dos anexos fetais, para 27 potros muares.

Fonte: (RICCIO, 2017)

5.4 DISCUSSÃO

Em toda a literatura revisada, não foram encontrados dados de referência para híbridos muares nas primeiras horas de vida. Desta forma, este trabalho avaliou de forma inédita a vitalidade, o comportamento neonatal, tempo de

delivramento dos anexos fetais, bem como os pesos dos neonatos e anexos fetais e sua relação nos muares ao nascimento, comparando com neonatos equinos.

O escore Apgar avalia a vitalidade dos neonatos logo após o parto, permitindo identificar aqueles com sinais de depressão que possam ter repercussões negativas para adaptação à vida extra uterina, para a saúde e sobrevida (KNOTTENBELT; HOLDSTOCK; MADIGAN, 2004; VERONESI et al., 2005, 2009). Apesar da literatura sugerir a avaliação nos primeiros minutos de vida (VAALA, 1999; KNOTTENBELT; HOLDSTOCK; MADIGAN, 2004; SGORBINI et al., 2009), no presente estudo os neonatos dos dois grupos foram avaliados ao nascimento, com 5, 10, 30 e 60 minutos de vida, já que os dados são escassos na literatura. Considerando a classificação dos parâmetros nos neonatos conforme descrito na literatura (KNOTTENBELT; HOLDSTOCK; MADIGAN, 2004), o escore obtido no presente experimento demonstra neonatos muares e equinos normais, assim como observado em asininos por Sgorbini et al. (2009). Porém notamos que ao longo dos tempos analisados os potros muares provavelmente atingem uma adaptação pós-parto ao ambiente extrauterino mais rápida, quando avaliados por meio de FC, FR, tônus muscular e irritabilidade reflexa. Uma hipótese seria o fenômeno de heterose, onde os muares adquiriram as melhores características dos equinos e asininos, nascendo com maior rusticidade, rapidez (observação pessoal) e maior capacidade para adaptação ao meio extrauterino.

Nas avaliações dos parâmetros comportamentais, não foram encontradas diferenças entre os muares e equinos para se posicionar em decúbito esternal, iniciar o reflexo de sucção e levantar. Os dados assemelham-se aos descritos na literatura para equinos (STONEHAM, 2006; MCKINNON et al., 2011; MCCUE et al., 2017) e asininos (SGORBINI et al., 2009), o que nos sugere que nestes aspectos os muares se comportam de forma semelhante aos outros equídeos.

Apesar dos dois grupos de neonatos apresentarem tempos iguais para levantar, os muares iniciaram a ingestão de colostro mais rapidamente quando comparados aos equinos. De acordo com Sgorbini e colaboradores (2009) os neonatos asininos iniciam a ingestão de colostro em tempo semelhante aos equinos (STONEHAM, 2006), demonstrando que resultado do presente trabalho em muares sugere uma adaptação acelerada ao ambiente extrauterino ou que os híbridos tenham mecanismos diferenciados de adaptação neonatal.

Uma hipótese que poderia ajudar a explicar as diferenças obtidas tanto na vitalidade neonatal bem como nos parâmetros comportamentais seria um mecanismo de depuração hormonal diferenciado entre muare e equinos. Madigan (2014) acredita que a pressão gerada no potro pelo canal do parto no momento da expulsão, é um importante sinalizador para que o feto deixe de produzir hormônios neuroesteróides que causam efeito sedativo, e que juntamente com o calor do ambiente uterino, possui ações neuroinibitórias que mantém o feto em estado sonolento durante a vida intrauterina. Após o nascimento, sinalizado pela passagem pelo canal do parto, ocorre um declínio rápido das concentrações destes hormônios em neonatos saudáveis (HIRST et al., 2006). Nossos dados sugerem mecanismos adaptativos diferentes entre muare e equinos, assim especulamos que os resultados obtidos no presente estudo se justifiquem com o trabalho de Madigan (2014).

A eliminação do mecônio na espécie equina é comumente associada a ingestão do colostro. Quando não completa pode acarretar em desconforto abdominal nos recém-nascidos, levando à complicações e morte (KNOTTENBELT; HOLDSTOCK; MADIGAN, 2004). Stoneham (2006) e McCue et al. (2017) relatam que o início da eliminação do mecônio nos equinos ocorre geralmente antes das 3 horas de vida, confirmando os resultados obtidos para o grupo de equinos. No presente estudo, apesar da ingestão mais rápida o início da eliminação do mecônio ocorreu significativamente mais tarde nos potros muare.

Por precaução, optou-se em realizar enema em 11 dos 30 animais muare que apresentaram desconforto. Provavelmente a eliminação tardia seja uma característica inerente a espécie, e maiores estudos sobre o trânsito intestinal normal e composição do mecônio nesses animais devem ser realizados.

Segundo Sharma (1973) ocorre uma liberação fisiológica de ocitona pelo estímulo da glândula mamária no momento que o neonato inicia a ingestão do colostro, desencadeando contrações miométriais que auxiliam na eliminação dos anexos. Tal mecanismo, foi contradito por Vivrette e colaboradores (2000) em estudo que concluiu que a amamentação não está significativamente relacionada à liberação sérica de ocitocina nas éguas. Nossos resultados demonstraram que tanto a ingestão de colostro como o delivramento dos anexos fetais no grupo dos muare foi mais precoce que nos equinos, sugerindo que o estímulo da glândula mamária pode estar relacionado ao tempo de eliminação dos anexos fetais conforme teoria

descrita por Sharma (1973). Apesar dos anexos dos dois grupos serem macroscopicamente semelhantes, outra hipótese seria uma diferença estrutural ou de eficiência placentária, como observado em jumentas por Veronesi e colaboradores (2010). Porém na literatura, não foram encontrados estudos histomorfométricos de anexos fetais de éguas prenhes de jumento.

A proporção do peso do neonato em relação ao anexo fetal foi avaliada por Wilsher; Allen (2003), demonstrando que quando alterada pode ser um indicativo de comprometimento da gestação e pode refletir no bem estar fetal e consequentemente neonatal (ELLIOTT et al., 2009). Esta relação está descrita na literatura como 11% nos equinos (MCKINNON et al., 2011) e 12% nos asininos (CARLUCCIO et al., 2008). Neste trabalho não houve correlação entre as variáveis, porém a maioria os anexos fetais representaram de 9 a 11% do peso dos neonatos muares (Apêndice 1).

5.5 CONCLUSÃO

Este estudo conclui de forma inédita que os neonatos muares tiveram escore Apgar maior do nascimento até 30 minutos de vida; ingeriram colostro mais rapidamente; a eliminação do mecônio foi mais tardia; o tempo de delivramento dos anexos fetais foi menor no grupo luar; e não houve diferença entre os pesos dos neonatos e dos anexos fetais.

REFERÊNCIAS

ACWORTH, N. R. J. The healthy neonatal foal: routine examinations and preventative medicine. **Equine Veterinary Education**, v. 6, p. 45–49, 10 jun. 2003. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.2042-3292.2003.tb01813.x>>.

APGAR, V. A proposal for a new method of evaluation of the newborn infant. **Curr.Res.Anesth.Analg**, v. 32, n. 4, p. 260–267, 1953.

BAUER, J. E.; HARVEY, J. W.; ASQUITH, R. L.; MCNULTY, P. K.; KIVIPELTO, J. Clinical chemistry reference values of foals during the first year of life. **Equine Veterinary Journal**, v. 16, p. 361–363, 1984.

BRINSKO, S. P.; BLANCHARD, T. L.; VARNER, D. D.; SCHUMACHER, J.; LOVE, C. C.; HINRICHS, K.; HARTMAN, D. **Manual of Equine Reproduction**. 3. ed. [s.l.] Mosby Elsevier, 2011. 336p.

CANISSO, I. F.; BALL, B. a; TROEDSSON, M. H.; SILVA, E. S. M.; DAVOLLI, G. M. Decreasing pH of mammary gland secretions is associated with parturition and is correlated with electrolyte concentrations in prefoaling mares. **The Veterinary record**, v. 173, n. 9, p. 218, 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23845941>>.

CARLUCCIO, A.; PANZANI, S.; TOSI, U.; RICCABONI, P.; CONTRI, A.; VERONESI, M. C. Morphological features of the placenta at term in the Martina Franca donkey. **Theriogenology**, v. 69, n. 8, p. 918–924, 2008.

ELLIOTT, C.; MORTON, J.; CHOPIN, J. Factors affecting foal birth weight in Thoroughbred horses. **Theriogenology**. v. 71, p. 683-689, 2009.

FARIAS, K. **Muares estão em alta no mercado rural**. 2014. Disponível em: <<http://www.opopular.com.br/editorias/economia/muares-estao-em-alta-no-mercado-rural-1.688407>>. Acesso em: 2 jul. 2017.

HIRST, J. J.; YAWNO, T.; NGUYEN, P.; WALKER, D. W. Stress in pregnancy activates neurosteroid production in the fetal brain. **Neuroendocrinology**, v. 84, n. 4, p. 264–274, 2006.

KNOTTENBELT, D. C.; HOLDSTOCK, N.; MADIGAN, J. E. **Equine Neonatology: Medicine and Surgery**. 1. ed. [s.l.] Saunders Ltd., 2004.

MADIGAN, J. Gumshoe Sleuthing in the World of Infectious Disease and Neonatology: Discoveries That Changed Equine and Human Health. In: Proceeding of the 60th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners - AAEP, Salt Lake. **Anais...** Salt Lake: 2014.

MCCUE, P. M.; FERRIS, R. A.; SWAIN, E. A.; LANDOLT, G. A. **Foal Formulary and Field Protocol Guide**. 1. ed. Colorado: Colorado State University, 2017.

MCKINNON, A. O.; SQUIRES, E. L.; VAALA, W. E.; VARNER, D. D. **Equine Reproduction**. 2. ed. [s.l: Wiley-Blackwell], 2011. 3288p.

MENEZES, M. L.; MOREIRA, C. G.; SCHIMIDT, B. L. U.; BRANDI, R. A.; IANNI, A. C.; CANCIAN, P. H.; LIMA, M. C. Particularidades dos muare - uma revisão. **Revista Brasileira de Medicina Equina**, v. 8, p. 16–20, 2013.

OLIVEIRA, L. **História dos muare no Brasil**. 2011. Disponível em: <<http://jumentoemuar.blogspot.com.br/2011/09/historia-dos-muare-no-brasil.html>>. Acesso em: 2 jul. 2017.

PIERCE, S. W. Foal Care from Birth to 30 Days: A Practitioner's Perspective. In: 49th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, New Orleans. **Anais...** New Orleans: 2003.

SGORBINI, M.; CRISCI, A.; FALCONCINI, A.; ROTA, A.; CORAZZA, M. Valutazione dei dati semeiologici e di alcuni parametri ematologici e biochimici nel puledro di asino sorcino crociato dell'amiata alla nascita. In: Atti del Congresso Nazionale SISVET, Udine. **Anais...** Udine: 2009.

SHARMA, O. P. Release of oxytocin elicited by suckling stimulus in mares. **J Reprod Fertil**, v. 37, p. 421–423, 1973.

STONEHAM, S. J. Assessing the newborn foal. In: **Equine Neonatal Medicine: A Case-Based Approach**. 1. ed. [Philadelphia: Elsevier Saunders.], 2006. p. 1–11.

VAALA, W. Peripartum asphyxia syndrome in foals. In: AAEP Proceedings, **Anais...**1999. Disponível em: <<http://www.ivis.org/proceedings/aaep/1999/247.pdf?pagewanted=all>>.

VAALA, W. E. Peripartum asphyxia. **The Veterinary clinics of North America. Equine practice**, v. 10, n. 1, p. 187–218, 1994.

VERONESI, M. C.; PANZANI, S.; FAUSTINI, M.; ROTA, A. An Apgar scoring system for routine assessment of newborn puppy viability and short-term survival prognosis. **Theriogenology**, v. 72, n. 3, p. 401–407, ago. 2009. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0093691X09001563>>.

VERONESI, M. C.; RICCABONI, P.; FAUSTINI, M.; BATTOCCHIO, M.; CAIROLI, F.; VILLANI, M. Potential Association Between Placental Features and Apgar Scores after Normal Parturition in the Thoroughbred Horse. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 4, n. 12, p. 965-970, 2005.

VERONESI, M. C.; VILLANI, M.; WILSHER, S.; CONTRI, A.; CARLUCCIO, A. A comparative stereological study of the term placenta in the donkey, pony and Thoroughbred. **Theriogenology**, v. 74, n. 4, p. 627–631, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.03.006>>.

VIVRETTE, S. L.; KINDAHL, H.; MUNRO, C. J.; ROSER, J. F.; STABENFELDT, G. H. Oxytocin release and its relationship to dihydro-15-keto PGF₂α and arginine vasopressin release during parturition and to suckling in postpartum mares. **Journal of reproduction and fertility**, v. 119, n. 2, p. 347–57, 2000. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10864848>>.

WILSHER, S.; ALLEN, W. R. The effects of maternal age and parity on placental and fetal development in the mare. **Equine veterinary journal**, v. 35, n. 5, p. 476–83, 2003. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12875326>>.

6 ARTIGO II - ANÁLISE HEMATOLÓGICA E BIOQUÍMICA EM MUARES SAUDÁVEIS DO NASCIMENTO ATÉ 1 MÊS DE VIDA: UM COMPARATIVO COM EQUINOS.

RESUMO

Hoje em dia, há um maior interesse nos muares e no número destes animais que participam de atividades de lazer e esportes. Alguns autores estabeleceram parâmetros hematológicos e bioquímicos para muares a partir dos 2 meses de idade e mostraram diferenças entre as idades e diferentes espécies de equídeos. No entanto não existem dados na literatura que descrevam estas análises em neonatos muares. Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi comparar os parâmetros hematológicos e bioquímicos de neonatos muares (n=15) e equinos (n=16) durante o primeiro mês de vida. Foram realizadas avaliações hematológicas (hemograma e plaquetas) e avaliações bioquímicas (ureia, creatinina, aspartato aminotransferase - AST, gama glutamilttransferase - GGT, albumina, fosfatase alcalina - FA, lactato desidrogenase - LDH, creatinoquinase - CK, bilirrubina total - BT, bilirrubina direta - BD, bilirrubina indireta - BI, lactato, glicose, proteína total - PT, triglicérides, colesterol, cálcio, fósforo, magnésio, ferro, cloro, sódio e potássio) nos dois grupos de neonatos ao nascimento, com 12, 24 horas, 7 e 30 dias. Os maiores valores foram obtidos nos muares para CHCM, plaquetas, albumina, cálcio, cloro, ferro e magnésio, enquanto que a contagem dos leucócitos totais, neutrófilos segmentados, linfócitos, assim como a relação neutrófilo:linfócito (N:L), fibrinogênio, BT, BD, BI, colesterol e enzima CK foram menores nos muares quando comparados aos equinos. Houve interação entre grupo e tempo nas variáveis hemácias, hematócrito, hemoglobina, leucócitos totais, neutrófilos segmentados, glicose, ureia, albumina, triglicérides, colesterol, CK e ferro. A contagem de hemácias, hematócrito e hemoglobina às 12 e 24 horas nos muares apresentaram menores valores quando comparados aos equinos. Menor contagem dos leucócitos totais e neutrófilos segmentados também ocorreu nos muares ao nascimento, com 12 horas, 7 e 30 dias. A glicose no grupo muar teve menor concentração ao nascimento, porém maiores valores com 12 e 24 horas, enquanto a ureia somente foi maior nos muares

aos 7 dias. Os muares deste estudo tiveram maior concentração de albumina, enquanto que o colesterol foi menor do que nos equinos em todos os tempos analisados. Os triglicérides foram menor nos muares às 12 horas e 7 dias. CK e a concentração de ferro foram menores nos muares com 12 e 24 horas de vida. Assim concluímos que muitos parâmetros hematológicos e bioquímicos avaliados são diferentes entre equinos e muares no decorrer do primeiro mês de vida. Tendo em vista as diferenças encontradas entre as espécies, este estudo oferece dados de referência que podem ser úteis para o diagnóstico e tratamento de neonatos muares comprometidos.

Palavras-chave: Mula. Híbrido. Hematologia. Bioquímico. Neonato.

ARTICLE II - HEMATOLOGICAL AND BIOCHEMICAL ANALYSIS IN HEALTHY MULES FROM BIRTH UNTIL 1 MONTH OF LIFE: A COMPARISON WITH EQUINE.

ABSTRACT

Nowadays, there is an increased interest in mules and the number of animals participating in leisure activities and sports. Some authors established hematological and biochemical parameters for mules beginning at 2 months of age and showed that there are differences among the ages and different species of equids. However, we could not find these parameters in neonates. The aim of the present study was to compare hematological and biochemical parameters of mule (n = 15) and horse (n = 16) neonates at birth, 12 and 24 hours, 7 and 30 days postpartum. Hematological (red blood cells, hematocrit, hemoglobin, mean corpuscular volume – MCV, mean corpuscular hemoglobin – MCH, mean corpuscular hemoglobin concentration - MCHC, platelets, total leukocytes, band and segmented neutrophils, lymphocytes, monocytes, basophils and eosinophils) and biochemical evaluations were performed (urea, creatinine, aspartate aminotransferase - AST, gamma-glutamyl-transferase - GGT, albumin, alkaline phosphatase - FA, dehydrogenase lactate - LDH, creatine phosphokinase - CK, total bilirubin - BT, direct bilirubin - BD, indirect bilirubin - BI, lactate, glucose, total protein, triglycerides, cholesterol, calcium, phosphorus, magnesium, iron, chlorine, sodium and potassium) in the two groups of neonates at birth, 12, 24 hours, 7 and 30 days. Mules had higher MCHC, platelets, albumin, calcium, chloride, iron and magnesium, while total leukocytes, segmented neutrophils, lymphocytes, neutrophil:lymphocyte ratio (N:L), fibrinogen, BT, BD, BI, cholesterol and CK were lower in mule compared to horses. Interaction was found between group and time for red blood cells, hematocrit, hemoglobin, total leukocytes, segmented neutrophils, glucose, urea, albumin, triglycerides, cholesterol, CK and iron. Red blood cells, hematocrit, hemoglobin were lower in mules at 12 and 24 hours compared to horses. Lower total leukocytes and segmented neutrophils was also detected in mules at birth, 12 hours, 7 and 30 days. Glucose was lower in mules at birth, but higher at 12 and 24 hours, while urea was only higher in mules at 7 days. The mules from this study had higher concentration of albumin, whereas cholesterol

was lower than in horses at all times studied. Triglycerides were lower in mules at 12 hours and 7 days. CK and iron concentration were lower in mules at 12 and 24 hours. Thus, we conclude that many hematological and biochemical parameters evaluated are different between horses and mules during the first month of life. Considering the differences found among the species, this study provides reference data that may be useful for the diagnosis and treatment of compromised mule neonates.

Keywords: Mule. Hybrid. Hematology. Biochemical. Neonate.

6.1 INTRODUÇÃO

Os muares são considerados animais rústicos, inteligentes, de percepção aguçada e menor reatividade a estímulos externos quando comparados a equinos. Essas características fazem com que se tornem ótimas opções para trabalho e lazer, além do maior número de animais em competições esportivas (OLIVEIRA, 2011; FARIAS, 2014; RIBEIRO, 2017). Alguns autores estabeleceram parâmetros hematológicos e bioquímicos para muares a partir dos 2 meses de idade (GUL et al., 2007; MCLEAN; WANG, 2013; DIAS, 2014; MCLEAN et al., 2016) e mostraram diferenças entre as idades e com outras espécies de equídeos.

Ao nascimento, ocorrem eventos de adaptação ao meio extrauterino (BAUER et al., 1984; BARTON, 2015) que se refletem em importantes alterações hemodinâmicas e bioquímicas. Esses valores de referência já estão estabelecidos na literatura para neonatos equinos (HARVEY et al., 1984; BAUER; ASQUITH; KIVIPELTO, 1989; HARVEY, 1990; AXON; PALMER, 2008) e asininos (SGORBINI et al., 2009, 2013; VERONESI et al., 2014), mostrando semelhanças e diferenças entre as espécies.

No entanto, apesar desta avaliação ser fundamental para identificação precoce de alterações nos recém-nascidos, não existem parâmetros laboratoriais estabelecidos para neonatos muares durante o primeiro mês de vida.

Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar os parâmetros hematológicos e bioquímicos dos neonatos muares, comparando com os equinos durante o primeiro mês de vida.

6.2 MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os procedimentos foram aprovados e desenvolvidos conforme as diretrizes da Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, sob o protocolo número 6001260715.

6.2.1 Animais

O estudo foi conduzido em uma população de 15 neonatos muares e 16 equinos, todos filhos de éguas da raça Mangalarga Paulista e jumento da raça Pêga nascidos na mesma propriedade, localizada em Piracaia, São Paulo - Brasil (latitude 23° 03' 14" S e longitude 46° 21' 29"), durante duas estações de nascimento (2015/2016 e 2016/2017).

As éguas prenhes de equinos foram suplementadas com concentrado no terço final da gestação. Todos os partos foram acompanhados e os critérios de inclusão utilizados foram: (1) neonatos provenientes de eutocia; (2) pontuação do escore APGAR ≥ 7 ao nascimento; (3) IgG ≥ 800 mg/dL às 24 horas de vida (IgG Check – Teste para detecção de IgG em potros, Vencofarma®, Brasil); (4) saudáveis nos momentos das coletas.

6.2.2 Coleta e Armazenamento das Amostras

Foram considerados cinco momentos: ao nascimento (imediatamente após expulsão; T0h), 12 horas (T12h), 24 horas (T24h), 7 dias (T7d) e 30 dias (T30d) pós-parto.

O sangue foi coletado por venopunção jugular em tubos estéreis a vácuo contendo EDTA para análise hematológica (BD Vacutainer®, BD, Brasil); fluoretado para dosagem de glicose e lactato (BD Vacutainer® Fluoreto/EDTA, BD, Brasil) e seco com ativador de coágulo jateado na parede para análise bioquímica (BD Vacutainer®, BD, Brasil).

Os tubos com EDTA foram encaminhados ao Zoonóstico Centro de Diagnóstico Veterinário, localizado em Bragança Paulista/SP. Os demais tubos foram submetidos à centrifugação (151 x g por 10 minutos) para separação do soro e plasma. Em seguida, as amostras foram aliquotadas e armazenadas em criotubos transparente e âmbar a -20°C, para posterior análise no Laboratório Clínico do

Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

6.2.3 Análise Hematológica

A avaliação hematológica (hemácias, hematócrito, hemoglobina, volume corpuscular médio - VCM, hemoglobina corpuscular média - HCM, concentração de hemoglobina média - CHCM, plaquetas, leucócitos totais, neutrófilos bastonetes e segmentados, linfócitos, monócitos, basófilos e eosinófilos) foi realizada em aparelho de Hematologia (T890, Coulter) previamente calibrado para as espécies em estudo. A contagem diferencial dos leucócitos foi realizada em lâmina no microscópio binocular (E-100, Nikon®).

6.2.4 Análise Bioquímica

Após descongelamento das alíquotas de soro sanguíneo armazenadas nos criotubos, as amostras foram analisadas com *kit* de reagentes específicos da marca Randox®, sendo eles ureia (UR 3825), creatinina (CR 3814), aspartato aminotransferase (AS 3804), gama glutamiltransferase (GT 3817), albumina (AB 3800), fosfatase alcalina (AP 3803), lactato desidrogenase (LD 3818), creatinoquinase (CK 3892), proteína total (TP 4001), cálcio (CA 3871), fósforo (PH 3820), magnésio (MG 3880), ferro (SI 250), triglicérides (TR 3823), colesterol (CH 3810), cloro (CL 1645), sódio (NA 3851) e potássio (PT 3852). As alíquotas de soro sanguíneo armazenadas em criotubo âmbar foram utilizadas para análise da bilirrubina total (BR 3859) e direta (BR 3807). A bilirrubina indireta foi calculada a partir da diferença entre elas. As alíquotas de plasma armazenadas foram utilizadas para análise do lactato (LC 3980) e glicose (GL 3815). O fibrinogênio foi mensurado pela técnica da precipitação por calor (banho maria, FANEM) analisado após centrifugação de microhematócrito.

Todas as avaliações bioquímicas foram realizadas por método de eletrodo íon seletivo, em analisador bioquímico automático da marca Randox® (modelo Daytona, Reino Unido), com exceção das avaliações de cloro, sódio e potássio, que foram realizadas no analisador de gasometria e eletrólitos Cobas® B121 (Alemanha).

6.2.5 Análise Estatística

Os dados obtidos foram analisados pelo programa *SAS System for Windows* 9.3 (SAS, 2000). Previamente, os dados foram testados quanto à normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias. Transformações (logaritmo na base 10, raiz quadrada, quadrado dos valores) foram utilizadas sempre que necessárias.

As variáveis foram analisadas pelo PROC MIXED, utilizando modelo linear misto para medidas repetidas no tempo, sendo considerados os efeitos fixos grupo, e tempo de vida. As variáveis que apresentaram interação foram submetidas ao Teste T para efeito de grupo, e teste de Tukey para efeito de tempo. Algumas das variáveis não respeitaram as premissas e então foram submetidas ao teste não-paramétrico de Wilcoxon. O nível de significância utilizado para rejeitar H₀ (hipótese de nulidade) para todas as variáveis foi de 5%. Os resultados foram apresentados por médias e erro padrão da média.

6.3 RESULTADOS

6.3.1 Análise Hematológica

No exame hematológico foi observado efeito de grupo nas variáveis CHCM, plaquetas, leucócitos totais, neutrófilos segmentados e linfócitos, assim como na relação neutrófilo:linfócito (N:L). Foi observado efeito de interação entre tempo e grupo para as variáveis hemácias, hematócrito, hemoglobina, leucócitos totais e neutrófilos segmentados (Tabela 4).

Tabela 4 - Parâmetros hematológicos expressos pela média $\pm$ erro padrão dos grupos muar e equino, e valores de p do grupo e da interação grupo e tempo.

VARIÁVEIS	GRUPO		VALOR DE P	
	Muar	Equino	Grupo	Grupo x Tempo
Hemácias ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	7,40 $\pm$ 0,14	7,87 $\pm$ 0,11	0,23	0,0082
Hematócrito (%)	38,26 $\pm$ 0,69	40,41 $\pm$ 0,59	0,71	0,01
Hemoglobina(g/L)	12,94 $\pm$ 0,22	13,25 $\pm$ 0,18	0,66	0,0047
VCM (fL)	51,61 $\pm$ 0,36	51,22 $\pm$ 0,45	0,13	0,93
HCM (pg)	17,43 $\pm$ 0,16	16,79 $\pm$ 0,18	0,92	0,63
CHCM (%)	33,85 $\pm$ 0,18	32,65 $\pm$ 0,21	0,04	0,40
Plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	342.179 $\pm$ 15.691	221.589 $\pm$ 10.949	0,0051	0,63
Basófilo ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0	0	0,30	0,33
Leucócito total ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	6.311 $\pm$ 260	9.283 $\pm$ 383	0,0014	0,02
N Bastonete ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0	0	0,40	0,53
N Segmentado ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	3.784 $\pm$ 193	6.311 $\pm$ 301	0,0013	0,01
Linfócito ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	2.221,88 $\pm$ 94,11	2.572,59 $\pm$ 141,50	0,01	0,81
N:L	1,74 $\pm$ 0,10	2,75 $\pm$ 0,19	<0,0001	0,08
Monócito ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	249,92 $\pm$ 17,68	237,46 $\pm$ 28,26	0,97	0,27
Eosinófilo ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	39,93 $\pm$ 13,38	38 $\pm$ 12,25	0,94	0,74

VCM: volume corpuscular médio; HCM: hemoglobina corpuscular média; CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média; N: neutrófilo; N:L: relação entre neutrófilo e linfócito

p < 0,05 na mesma linha indica diferença significativa

Fonte: (RICCIO, 2017)

Na variável hemácias houve diferença entre os grupos nos tempos 12h e 24h. Nos muares, a contagem de hemácias foi igual nos tempos 0h e 30d, que diferiram dos outros momentos avaliados. Nos neonatos equinos, a contagem das hemácias foi igual nos tempos 0h, 12h, 24h e 30d, enquanto que o T7d foi estatisticamente inferior ao T0 (Tabela 5).

Tabela 5 - Média $\pm$ erro padrão da contagem de hemácias ($\times 10^6/\mu\text{L}$) entre os grupos muar e equino, avaliados do nascimento até 30 dias.

TEMPO	GRUPO		VALOR DE P
	Muar	Equino	
T0h	8,22 $\pm$ 0,21 ^a	8,31 $\pm$ 0,21 ^a	0,75
T12h	6,83 $\pm$ 0,24 ^b	7,95 $\pm$ 0,22 ^{ab}	0,002
T24h	7,05 $\pm$ 0,29 ^b	7,94 $\pm$ 0,23 ^{ab}	0,02
T7d	6,52 $\pm$ 0,29 ^b	7,21 $\pm$ 0,33 ^b	0,13
T30d	8,17 $\pm$ 0,22 ^a	7,80 $\pm$ 0,19 ^{ab}	0,21

T0h: ao nascimento; T12h: 12 horas; T24h: 24 horas; T7d: 7 dias; T30d: 30 dias

Letras minúsculas diferentes dentro da mesma coluna representam diferença estatística (P<0,05)

O efeito do grupo nos tempos está representado por valor de p, enquanto que o efeito do tempo nos grupos está indicado por letras minúsculas diferentes dentro das colunas.

Fonte: (RICCIO, 2017)

Observamos diferença entre os grupos nos tempos 12h e 24h para a variável hematócrito. Nos muares, o hematócrito no tempo 0h foi maior que todos os outros momentos avaliados e não foram observadas diferenças estatísticas entre os tempos 12h, 24h e 7d. Já nos equinos, o hematócrito nos tempos 12h, 24h, 7d e 30d foram iguais e houve diferença significativa do tempo 0h quando comparado aos tempos 7d e 30d (Tabela 6).

Tabela 6 - Média $\pm$ erro padrão do hematócrito (%) entre os grupos muar e equino, avaliados do nascimento até 30 dias.

TEMPO	GRUPO		VALOR DE P
	Muar	Equino	
T0h	44,50 $\pm$ 0,70 ^a	44,52 $\pm$ 0,98 ^a	0,99
T12h	35,75 $\pm$ 0,96 ^{bc}	41,04 $\pm$ 1,12 ^{ab}	0,001
T24h	36,69 $\pm$ 1,14 ^{bc}	40,85 $\pm$ 0,97 ^{ab}	0,01
T7d	33,45 $\pm$ 1,34 ^c	36,72 $\pm$ 1,73 ^b	0,14
T30d	39,87 $\pm$ 1,36 ^b	38,15 $\pm$ 1,14 ^b	0,33

T0h: ao nascimento; T12h: 12 horas; T24h: 24 horas; T7d: 7 dias; T30d: 30 dias

Letras minúsculas diferentes dentro da mesma coluna representam diferença estatística ($P < 0,05$)

O efeito do grupo nos tempos está representado por valor de p, enquanto que o efeito do tempo nos grupos está indicado por letras minúsculas diferentes dentro das colunas.

Fonte: (RICCIO, 2017)

Para variável hemoglobina, houve diferença entre os grupos nos tempos 12h, 24h e 30d. Nos muares, a concentração de hemoglobina nos tempos 0h e 30d foi maior que todos os outros momentos avaliados e não foram observadas diferenças estatísticas entre os tempos 12h, 24h e 7d. Nos equinos, a concentração de hemoglobina nos tempos 12h, 24h, 7d e T30d foram iguais e houve diferença significativa entre o tempo 0h quando comparado aos tempos 7d e 30d (Tabela 7).

Tabela 7 - Média $\pm$ erro padrão da concentração de hemoglobina (g/L) entre os grupos muar e equino, avaliados do nascimento até 30 dias.

TEMPO	GRUPO		VALOR DE P
	Muar	Equino	
T0h	14,90 $\pm$ 0,24 ^a	14,65 $\pm$ 0,27 ^a	0,49
T12h	12,14 $\pm$ 0,27 ^c	13,41 $\pm$ 0,34 ^{ab}	0,01
T24h	12,50 $\pm$ 0,26 ^{bc}	13,45 $\pm$ 0,34 ^{ab}	0,04
T7d	11,20 $\pm$ 0,46 ^c	12,15 $\pm$ 0,49 ^b	0,17
T30d	13,63 $\pm$ 0,39 ^{ab}	12,35 $\pm$ 0,36 ^b	0,02

T0h: ao nascimento; T12h: 12 horas; T24h: 24 horas; T7d: 7 dias; T30d: 30 dias

Letras minúsculas diferentes dentro da mesma coluna representam diferença estatística ($P < 0,05$)

O efeito do grupo nos tempos está representado por valor de p, enquanto que o efeito do tempo nos grupos está indicado por letras minúsculas diferentes dentro das colunas.

Fonte: (RICCIO, 2017)

A contagem de leucócitos totais foi diferente entre os grupos nos tempos 0h, 12h, 7d e 30d. Não foi observada diferença estatística na contagem de leucócitos totais para os muare. Já nos equinos, a contagem de leucócitos nos tempos 0h, 12h e 24h foram iguais, diferindo do tempo 7d que foi estatisticamente superior aos demais, sendo igual somente ao 30d (Tabela 8).

Tabela 8 - Média $\pm$ erro padrão da contagem de leucócito total ($\times 10^6/\mu\text{L}$) entre os grupos muar e equino, avaliados do nascimento até 30 dias.

TEMPO	GRUPO		VALOR DE P
	Muar	Equino	
T0h	5.526 $\pm$ 400	8.233 $\pm$ 465 ^{bc}	0,0002
T12h	5.583 $\pm$ 406	8.646 $\pm$ 721 ^{bc}	0,003
T24h	6.166 $\pm$ 678	6.887 $\pm$ 674 ^c	0,58
T7d	7.078 $\pm$ 536	12.016 $\pm$ 920 ^a	0,0001
T30d	7.135 $\pm$ 731	11.340 $\pm$ 785 ^{ab}	0,0002

T0h: ao nascimento; T12h: 12 horas; T24h: 24 horas; T7d: 7 dias; T30d: 30 dias

Letras minúsculas diferentes dentro da mesma coluna representam diferença estatística ($P < 0,05$)

O efeito do grupo nos tempos está representado por valor de p, enquanto que o efeito do tempo nos grupos está indicado por letras minúsculas diferentes dentro das colunas.

Fonte: (RICCIO, 2017)

Observamos diferença estatística entre os grupos na contagem de neutrófilos segmentados em todos os tempos, menos no 24h. Não foi observada diferença significativa na contagem de neutrófilos segmentados para os muare. Já nos equinos, a contagem dos neutrófilos foi igual nos tempos 0h, 12h e 24h, diferindo do tempo 7d que foi estatisticamente superior aos demais, sendo igual somente ao 30d (Tabela 9).

Tabela 9 - Média $\pm$ erro padrão da contagem de neutrófilo segmentado ($\times 10^6/\mu\text{L}$) entre os grupos muar e equino, avaliados do nascimento até 30 dias.

TEMPO	GRUPO		VALOR DE P
	Muar	Equino	
T0h	3.279,80 $\pm$ 339,07	5.553,13 $\pm$ 322,22 ^{bc}	< 0,0001
T12h	3.562,42 $\pm$ 309,53	5.884,53 $\pm$ 627,88 ^{bc}	0,006
T24h	3.912,75 $\pm$ 527,62	4.466,50 $\pm$ 500,05 ^c	0,48
T7d	4.150,36 $\pm$ 437,04	8.745,42 $\pm$ 733,28 ^a	< 0,0001
T30d	4.041,57 $\pm$ 527,22	7.518,47 $\pm$ 624,61 ^{ab}	0,0001

T0h: ao nascimento; T12h: 12 horas; T24h: 24 horas; T7d: 7 dias; T30d: 30 dias

Letras minúsculas diferentes dentro da mesma coluna representam diferença estatística ($P < 0,05$)

O efeito do grupo nos tempos está representado por valor de p, enquanto que o efeito do tempo nos grupos está indicado por letras minúsculas diferentes dentro das colunas.

Fonte: (RICCIO, 2017)

6.3.2 Análise Bioquímica

Os exames bioquímicos revelaram efeito de grupo nas bilirrubinas (total, indireta e direta), albumina, colesterol, fibrinogênio, CK, cálcio, cloro magnésio e ferro. Foi observado efeito de interação entre tempo e grupo para as variáveis glicose, ureia, albumina, triglicérides, colesterol, CK e ferro conforme descrito na Tabela 10.

Tabela 10 - Parâmetros bioquímicos das substâncias não eletrolíticas expressos pela média $\pm$ erro padrão dos grupos muar e equino, e valores de p do grupo e da interação grupo e tempo.

VARIÁVEIS	GRUPO		VALOR DE P	
	Muar	Equino	Grupo	Grupo x Tempo
Glicose (mg/dL)	145,09 $\pm$ 6,41	142,46 $\pm$ 4,17	0,52	0,0002
Lactato (mg/dL)	2,09 $\pm$ 0,17	2,39 $\pm$ 0,14	0,07	0,23
BT (mg/dL)	1,28 $\pm$ 0,10	2,30 $\pm$ 0,14	0,0093	0,10
BI (mg/dL)	1,09 $\pm$ 0,10	1,89 $\pm$ 0,13	0,01	0,08
BD (mg/dL)	0,19 $\pm$ 0,01	0,40 $\pm$ 0,02	0,01	0,87
Ureia (mg/dL)	34,08 $\pm$ 1,40	33,91 $\pm$ 1,73	0,63	0,02
Creatinina (mg/dL)	1,60 $\pm$ 0,09	1,52 $\pm$ 0,07	0,82	0,32
PT (g/dL)	6,07 $\pm$ 0,11	5,92 $\pm$ 0,13	0,14	0,14
Albumina (g/dL)	3,24 $\pm$ 0,05	2,84 $\pm$ 0,03	0,0039	0,0005
Triglicérides (mg/dL)	39,06 $\pm$ 2,52	45,40 $\pm$ 3,38	0,09	0,0054
Colesterol (mg/dL)	141,65 $\pm$ 4,98	196,44 $\pm$ 8,39	0,0095	0,02
Fibrinogênio (mg/dL)	152,38 $\pm$ 10,81	246,47 $\pm$ 16,15	0,01	0,48
AST (U/L)	80,57 $\pm$ 4,67	87,83 $\pm$ 4,48	0,22	0,69
GGT (U/L)	13,94 $\pm$ 0,96	18,70 $\pm$ 1,22	0,11	0,68
CK (U/L)	65,39 $\pm$ 3,66	91,50 $\pm$ 7,20	0,03	0,0048
FA (U/L)	1891,46 $\pm$ 130,78	2134,65 $\pm$ 136,97	0,22	0,20
LDH (U/L)	350,49 $\pm$ 18,92	425,04 $\pm$ 22,67	0,05	0,10
Sódio (mEq/L)	136,33 $\pm$ 0,66	137,61 $\pm$ 0,52	0,61	0,61
Potássio (mEq/L)	4,33 $\pm$ 0,07	4,50 $\pm$ 0,10	0,39	0,40
Cálcio (mg/dL)	12,27 $\pm$ 0,14	11,16 $\pm$ 0,12	0,03	0,48
Fósforo (mg/dL)	5,45 $\pm$ 0,25	5,40 $\pm$ 0,21	0,22	0,05
Cloro (μ mol/L)	100,78 $\pm$ 0,52	100,29 $\pm$ 0,50	0,03	0,90
Magnésio (μ mol/L)	0,82 $\pm$ 0,01	0,71 $\pm$ 0,01	0,0071	0,06
Ferro (mmol/L)	35,01 $\pm$ 2,48	43,06 $\pm$ 2,34	0,02	0,04

BT: bilirrubina total; BI: bilirrubina indireta; BD: bilirrubina direta; PT: proteína total; AST: aspartato aminotransferase; GGT: gama glutamiltransferase; CK: creatinoquinase; FA: fosfatase alcalina; LDH: lactato desidrogenase.

Todos os resultados estão à 25°C

p < 0,05 na mesma linha indica diferença significativa

Fonte: (RICCIO, 2017)

Na concentração de glicose observamos diferença entre os grupos nos tempos 0h, 12h e 24h. Nos muares houve maior concentração de glicose nos tempos 12h e 24h, enquanto que o tempo 7d foi igual ao 30d. Nos equinos a concentração de glicose foi igual nos tempos 12h, 7d e 30d e o tempo 0h foi estatisticamente inferior dos demais momentos nos dois grupos (Tabela 11).

Tabela 11 - Média $\pm$ erro padrão da concentração de glicose (mg/dL) dos grupos muar e equino, avaliados do nascimento até 30 dias.

TEMPO	GRUPO		VALOR DE P
	Muar	Equino	
T0h	60,61 $\pm$ 5,79 ^c	82,86 $\pm$ 6,27 ^c	0,01
T12h	184,90 $\pm$ 7,02 ^a	146,64 $\pm$ 4,86 ^b	< 0,0001
T24h	196,18 $\pm$ 9,52 ^a	169,83 $\pm$ 5,07 ^a	0,01
T7d	153,95 $\pm$ 4,51 ^b	163,7 $\pm$ 3,40 ^{ab}	0,09
T30d	136,67 $\pm$ 3,78 ^b	148,6 $\pm$ 4,74 ^b	0,06

T0h: ao nascimento; T12h: 12 horas; T24h: 24 horas; T7d: 7 dias; T30d: 30 dias

Letras minúsculas diferentes dentro da mesma coluna representam diferença estatística (P<0,05)

O efeito do grupo nos tempos está representado por valor de p, enquanto que o efeito do tempo nos grupos está indicado por letras minúsculas diferentes dentro das colunas.

Fonte: (RICCIO, 2017)

Na variável ureia houve diferença entre os grupos somente no tempo 7d. Dentro do grupo dos muares a concentração foi estatisticamente superior nos tempos 0h e 12h, diferindo dos tempos 7d e 30d, que tiveram menores concentrações que os demais tempos analisados. Para os equinos, houve maior concentração de ureia nos tempos 0h, 12h e 24h, enquanto que o tempo 30d diferiu de todos os outros. O tempo 7d foi estatisticamente inferior dos demais (Tabela 12).

Tabela 12 - Média $\pm$ erro padrão da concentração de ureia (mg/dL) entre os grupos muar e equino, avaliados do nascimento até 30 dias.

TEMPO	GRUPO		VALOR DE P
	Muar	Equino	
T0h	46,13 $\pm$ 2,76 ^a	47,45 $\pm$ 3,41 ^a	0,81
T12h	36,72 $\pm$ 2,15 ^{ab}	41,84 $\pm$ 2,47 ^a	0,13
T24h	34,74 $\pm$ 2,82 ^{bc}	37,80 $\pm$ 2,85 ^a	0,45
T7d	27,25 $\pm$ 2,16 ^{cd}	15,97 $\pm$ 1,82 ^c	0,0004

T30d	24,55 ± 2,30^d	25,44 ± 2,43^b	0,80
-------------	---------------------------------	---------------------------------	-------------

T0h: ao nascimento; T12h: 12 horas; T24h: 24 horas; T7d: 7 dias; T30d: 30 dias

Letras minúsculas diferentes dentro da mesma coluna representam diferença estatística ($P < 0,05$)

O efeito do grupo nos tempos está representado por valor de p, enquanto que o efeito do tempo nos grupos está indicado por letras minúsculas diferentes dentro das colunas.

Fonte: (RICCIO, 2017)

Na variável albumina houve diferença entre os grupos nos tempos 0h, 12h, 24h e 7d. Nos muares, a concentração de albumina no tempo 0h foi maior que todos os outros momentos avaliados e não houve diferença estatística entre os tempos 12h, 24h, 7d e T30d. Já nos equinos, a concentração de albumina nos tempos 0h, 12h, 24h e 7d foram iguais e houve diferença significativa entre os tempos 24h e 30d (Tabela 13).

Tabela 13 - Média ± erro padrão da concentração de albumina (g/dL) entre os grupos muar e equino, avaliados do nascimento até 30 dias.

TEMPO	GRUPO		VALOR DE P
	Muar	Equino	
T0h	3,70 ± 0,07 ^a	2,97 ± 0,09 ^{ab}	< 0,0001
T12h	3,17 ± 0,08 ^b	2,78 ± 0,08 ^{ab}	0,001
T24h	3,13 ± 0,10 ^b	2,68 ± 0,07 ^b	0,001
T7d	3,07 ± 0,10 ^b	2,73 ± 0,08 ^{ab}	0,01
T30d	3,12 ± 0,11 ^b	3,04 ± 0,07 ^a	0,55

T0h: ao nascimento; T12h: 12 horas; T24h: 24 horas; T7d: 7 dias; T30d: 30 dias

Letras minúsculas diferentes dentro da mesma coluna representam diferença estatística ($P < 0,05$)

O efeito do grupo nos tempos está representado por valor de p, enquanto que o efeito do tempo nos grupos está indicado por letras minúsculas diferentes dentro das colunas.

Fonte: (RICCIO, 2017)

Houve diferença entre os grupos para concentração de triglicérides somente nos tempos 12h e 7d. No grupo muar, a concentração nos tempos 24h, 7d e 30d foi estatisticamente superior, que diferiram dos outros momentos avaliados. Nos equinos, a maior concentração foi observada no tempo 7d, enquanto que os tempos 24h e 30d foram iguais. A menor concentração foi no tempo 0h (Tabela 14).

Tabela 14 - Média ± erro padrão da concentração de triglicérides (mg/dL) entre os grupos muar e equino, avaliados do nascimento até 30 dias.

TEMPO	GRUPO		VALOR DE P
	Muar	Equino	
T0h	18,70 ± 1,93 ^b	17,25 ± 1,57 ^d	0,66
T12h	22,49 ± 1,73 ^b	29,67 ± 2,61 ^c	0,01
T24h	50,30 ± 5,14 ^a	48,08 ± 5,19 ^b	0,64
T7d	52,89 ± 5,05 ^a	85,02 ± 8,35 ^a	0,001

T30d	54,40 ± 4,47^a	48,63 ± 4,96^b	0,39
-------------	---------------------------------	---------------------------------	-------------

T0h: ao nascimento; T12h: 12 horas; T24h: 24 horas; T7d: 7 dias; T30d: 30 dias

Letras minúsculas diferentes dentro da mesma coluna representam diferença estatística ($P < 0,05$)

O efeito do grupo nos tempos está representado por valor de p, enquanto que o efeito do tempo nos grupos está indicado por letras minúsculas diferentes dentro das colunas.

Fonte: (RICCIO, 2017)

Na variável colesterol observamos diferença entre os grupos nos tempos 12h, 24h, 7d e 30d. No grupo muar, a concentração de colesterol foi significativamente inferior nos tempos 7d e 30d. As maiores concentrações foram nos tempos 12h e 24h. Já nos equinos, as concentrações de colesterol foram iguais nos tempos 0h, 12h, 24h e 7d, sendo que a concentração do tempo 30d foi igual somente ao 0h (Tabela 15).

Tabela 15 - Média ± erro padrão da concentração de colesterol (mg/dL) entre os grupos muar e equino, avaliados do nascimento até 30 dias.

TEMPO	GRUPO		VALOR DE P
	Muar	Equino	
T0h	141,96 ± 8,93 ^b	182,34 ± 17,78 ^{ab}	0,09
T12h	163 ± 8,93 ^{ab}	211,33 ± 18,46 ^a	0,04
T24h	184,25 ± 12,09 ^a	241,80 ± 21,45 ^a	0,03
T7d	111,38 ± 4,45 ^c	205,15 ± 14,38 ^a	< 0,0001
T30d	109,15 ± 5,40 ^c	137,24 ± 7,18 ^b	0,007

T0h: ao nascimento; T12h: 12 horas; T24h: 24 horas; T7d: 7 dias; T30d: 30 dias

Letras minúsculas diferentes dentro da mesma coluna representam diferença estatística ($P < 0,05$)

O efeito do grupo nos tempos está representado por valor de p, enquanto que o efeito do tempo nos grupos está indicado por letras minúsculas diferentes dentro das colunas.

Fonte: (RICCIO, 2017)

Observamos diferença entre os grupos para variável CK nos tempos 12h e 24h. Não houve diferença estatística na concentração de CK para o grupo muar. Já nos equinos a concentração foi significativamente superior nos tempos 12h e 24h, diferindo do tempo 0h (Tabela 16).

Tabela 16 - Média ± erro padrão da concentração de CK (U/L), dos grupos muar e equino, avaliados do nascimento até 30 dias.

TEMPO	GRUPO		VALOR DE P
	Muar	Equino	
T0h	61,91 ± 10,90	58,85 ± 9,66 ^c	0,78
T12h	70,68 ± 7,66	152,93 ± 22,97 ^a	0,0007
T24h	54,45 ± 3,06	99,80 ± 10,01 ^{ab}	< 0,0001
T7d	71,20 ± 10,22	67,71 ± 8,83 ^{bc}	0,68
T30d	67,80 ± 5,95	68,22 ± 6,32 ^{bc}	0,99

T0h: ao nascimento; T12h: 12 horas; T24h: 24 horas; T7d: 7 dias; T30d: 30 dias
 Letras minúsculas diferentes dentro da mesma coluna representam diferença estatística ($P < 0,05$)
 O efeito do grupo nos tempos está representado por valor de p, enquanto que o efeito do tempo nos grupos está indicado por letras minúsculas diferentes dentro das colunas.
 Fonte: (RICCIO, 2017)

Houve diferença para variável ferro entre os grupos nos tempos 12h e 24h. Nos muares, a concentração de ferro nos tempos 12h, 7d e 30d foram iguais. Já nos equinos, a concentração nos tempos 24h, 7d e 30d foi significativamente inferior dos demais momentos analisados. A concentração no tempo 0h foi estatisticamente superior nos dois grupos (Tabela 17).

Tabela 17 - Média $\pm$ erro padrão da concentração de ferro (mmol/L), entre os grupos muar e equino, avaliados do nascimento até 30 dias.

TEMPO	GRUPO		VALOR DE P
	Muar	Equino	
T0h	64,20 $\pm$ 3,26 ^a	69,65 $\pm$ 3,13 ^a	0,24
T12h	33,09 $\pm$ 2,85 ^b	48,76 $\pm$ 2,83 ^b	0,0005
T24h	18,44 $\pm$ 2,49 ^c	37,62 $\pm$ 2,88 ^{bc}	< 0,0001
T7d	26,77 $\pm$ 3,82 ^{bc}	24,04 $\pm$ 4,23 ^c	0,63
T30d	28,22 $\pm$ 5,06 ^{bc}	34,46 $\pm$ 4,58 ^c	0,36

T0h: ao nascimento; T12h: 12 horas; T24h: 24 horas; T7d: 7 dias; T30d: 30 dias
 Letras minúsculas diferentes dentro da mesma coluna representam diferença estatística ($P < 0,05$)
 O efeito do grupo nos tempos está representado por valor de p, enquanto que o efeito do tempo nos grupos está indicado por letras minúsculas diferentes dentro das colunas.
 Fonte: (RICCIO, 2017)

6.4 DISCUSSÃO

Com base na literatura pesquisada, este é o primeiro trabalho que avaliou os parâmetros hematológicos e bioquímicos de neonatos muares durante o primeiro mês de vida, comparando-os com neonatos equinos. Estas informações são importantes para a correta avaliação clínica e interpretação dos exames laboratoriais em muares saudáveis, e identificação de alterações permitindo diagnóstico e tratamento de afecções.

A série vermelha do exame hematológico compreende a contagem de hemácias, hemoglobina e hematócrito, além do VCM, HCM e CHCM (WEISS; WARDROP, 2010). Observamos que os muares são diferentes na contagem de hemácias, hemoglobina e hematócrito com 12 e 24 horas de vida. Essa diferença

não foi observada ao nascimento, o que nos faz pensar que durante a vida fetal à hematopoiese ocorra da mesma maneira nos muares e equinos. No entanto, com 12 e 24 horas, provavelmente ocorreu uma menor produção ou maior destruição dos eritrócitos nos muares. Corroborando estas hipóteses, alguns autores relatam eventos fisiológicos logo após o nascimento que justificam esta menor contagem de células vermelhas, como: hemodiluição, destruição fisiológica dos eritrócitos fetais nas primeiras horas de vida e diminuição da produção de eritrócitos devido ao aumento da oxigenação sanguínea pelo início da respiração pulmonar (LEE; BROWN; HUTZLER, 1976; HARVEY et al., 1984). Após este período, nossos dados mostram que aos 7 e 30 dias os valores dessas variáveis são similares em muares e equinos.

Não foi encontrada diferença entre os grupos para VCM e HCM, porém a CHCM foi maior nos muares, podendo sugerir que a hemácia dos muares carrega maior concentração de hemoglobina, provavelmente às 12 e 24 horas, porém se equiparam a partir dos 7 dias (WEISS; WARDROP, 2010).

A quantidade de plaquetas é constante durante o primeiro mês de vida nos neonatos equinos (HARVEY, 1990) e asininos (SGORBINI et al., 2013), o que também ocorreu nos muares deste trabalho. Porém observamos nos muares uma média maior do que nos equinos, podendo sugerir que este aumento seja uma característica fisiológica destes híbridos, ou possivelmente exista uma precocidade na maturação da função hematopoiética nos mesmos (AOKI; ISHII, 2012) ou mecanismos homeostáticos mais imaturos nos neonatos equinos (CLEMMONS et al., 1984), uma vez que os valores de referência para equinos e muares adultos são iguais (DIAS, 2014).

Os neutrófilos e linfócitos são os leucócitos mais comuns, sendo a relação entre eles (N:L) logo após o parto um indicador efetivo de maturidade neonatal em equinos. A relação menor que 1:1 juntamente com neutropenia é indicativo de incompleta maturação da glândula adrenal (LESTER, 2005). Os muares deste estudo, apesar de saudáveis, apresentaram menor contagem de leucócitos totais, neutrófilos segmentados e linfócitos, bem como menor relação N:L da mesma forma que neonatos asininos (Sgorbini et al. 2009) quando comparados aos equinos. Assim, acreditamos que estes valores sejam fisiológicos nos neonatos muares maduros, confirmando desta forma a existência de padrões diferentes entre as espécies de equídeos.

Quando avaliados os neutrófilos segmentados, ocorreu interação entre grupo e tempo, e os muares tiveram menor contagem que os equinos ao nascimento e com 12 horas de vida. Segundo Weiss; Wardrop (2010) ocorre um aumento transitório na contagem dos neutrófilos segmentados nas primeiras horas de vida nos equinos em resposta a presença de cortisol no momento do parto, porém esse aumento transitório não foi visto nos muares e equinos deste estudo. Nossos resultados demonstraram uma menor contagem de neutrófilos segmentados no muares ao nascimento e às 12 horas de vida, sugerindo uma liberação menor de cortisol desencadeada pelo parto de muares ou que a resposta ao cortisol seja diferente nos híbridos. Nos asininos, de acordo com Veronesi e colaboradores (2014), não foi observada alteração na contagem dos neutrófilos nas primeiras 24 horas de vida, concordando com os resultados para muares, onde não houve alteração na contagem de neutrófilos no decorrer das 24 horas de vida.

A contagem dos basófilos, eosinófilos e monócitos foi igual nos muares e equinos deste estudo, mostrando que as duas espécies se comportaram de forma igual nos tempos coletados. Da mesma forma, Veronesi e colaboradores (2014), mostram que a contagem de basófilos e eosinófilos não se alterou do nascimento até 7 dias nos asininos, entretanto ocorreu aumento na contagem de monócitos a partir das 48 horas, o que não foi observado nos neonatos muares e equinos deste estudo.

Os valores de fibrinogênio dos muares no presente estudo foram estatisticamente menores que dos equinos, sendo possivelmente uma característica dos híbridos, uma vez que Gul e colaboradores (2007) mostraram valores inferiores em muares adultos quando comparados aos equinos e asininos. A concentração de lactato que fornece informações prognósticas importantes, podendo indicar redução da perfusão e até falta de oxigenação tecidual, alterações metabólicas congênitas ou inflamação com ativação do catabolismo proteico, como em casos de septicemia (CORLEY; DONALDSON; FURR, 2005; TENNENT-BROWN, 2014) foi igual nos dois grupos avaliados. Considerando que todos os animais estudados eram saudáveis, acreditamos que os muares tenham parâmetros iguais aos equinos nesta avaliação.

Os níveis glicêmicos dos neonatos ao nascimento é aproximadamente 50-60% dos níveis maternos, uma vez que no terço final da gestação ocorre uma captação de glicose pela unidade fetoplacentária, entre as circulações materna e fetal (SIMMONS; BATTAGLIA; MESCHIA, 1979; PALMER, 2006). A influência da

dieta materna e o aumento das concentrações de glicose podem alterar a transferência de nutrientes do sangue materno para o fetal, especificamente o gradiente de glicose (GEORGE et al., 2009). Esse fato pode explicar a menor concentração de glicose nos neonatos muares, uma vez que os valores obtidos nos equinos ao nascimento também foram superiores aos descritos por Knottenbelt; Holdstock; Madigan (2004) e Palmer (2006), sendo 25-45 mg/dL e 54-63 mg/dL, respectivamente. Os níveis de glicose permanecem baixos até as primeiras 4 horas de vida nos equinos, até que se inicie a nutrição enteral como fonte de glicose e gliconeogênese (PALMER, 2006). Houve às 12 e 24 horas aumento dos níveis de glicose nos dois grupos, sendo que foi observada a ingestão de colostro em todos os neonatos estudados, porém os muares tiveram valores maiores que os equinos. Uma hipótese seria que os muares usam energia fornecida pela via metabólica lipídica, reservando glicose e utilizando gordura nas primeiras horas. Essa ideia é reforçada uma vez que às 12 horas de vida os muares tiveram concentrações menores de triglicérides e colesterol do que os equinos, diferença esta não vista entre os grupos ao nascimento, sugerindo que a passagem destes lipídios durante o terço final da gestação via placenta ocorreu de forma igual nos dois grupos estudados, uma vez que os achados de Stammers et al. (1994) sustentam a ideia que ocorra este fornecimento através da placenta entre mãe e feto.

Os níveis de colesterol permanecem menores nos muares quando comparado aos equinos às 24 horas, 7 e 30 dias, evidenciando diferença entre os muares e equinos neste parâmetro. Notamos que os muares se comportam de forma semelhante aos neonatos asininos descritos por Veronesi et al. (2014), onde ocorreu uma maior concentração de colesterol às 24 horas e queda com 7 e 30 dias.

Os muares tiveram maiores concentrações de albumina do que os equinos desde o nascimento até os 7 dias, assim sugerindo valores fisiológicos diferente dos equinos neste parâmetro. Sabe-se que os valores de albumina não apresentam variações em neonatos saudáveis nos primeiros dias de vida (GIRARDI et al., 2016), corroborando os dados encontramos nos animais deste estudo. Já as concentrações da proteína total foram iguais entre os muares e equinos.

As bilirrubinas dos muares tiveram concentrações significativamente menores quando comparados aos equinos. Alguns trabalhos relatam valores baixos da bilirrubina total em asininos nos primeiros dias de vida (SGORBINI et al., 2013;

VERONESI et al., 2014), demonstrando que os muares se assemelham mais aos neonatos jumentos.

Em relação a ureia, sabe-se que os níveis ao nascimento são similares aos de adultos, e que decrescem nos primeiros dias de vida (BAUER et al., 1984), concordando com os valores observados nos muares e equinos deste trabalho. Acredita-se que essa queda ocorra por um aumento na demanda de aminoácidos para síntese proteica ou início da micção na vida extra-uterina (CHANEY et al., 2010; AOKI; ISHII, 2012). Já a creatinina foi igual nos dois grupos dentro do intervalo esperado para equinos. Valores aumentados nas primeiras horas de vida sugerem condições patológicas placentárias e estresse fetal (PALMER, 2006), o que não ocorreu nos neonatos incluídos neste trabalho.

Em relação às enzimas hepáticas pesquisadas, não observamos diferença entre muares e equinos, demonstrando que durante o tempo estudado ambos se comportaram de forma semelhante. Dias (2014) não observou variação nas concentrações de GGT e da enzima muscular CK em muares dos 2 meses até 3 anos de vida. Em vacas e ovelhas os anticorpos e a GGT presente no colostro promove uma absorção intestinal no neonato e consequente alteração nos parâmetros fisiológicos destas espécies. Porém a GGT não está presente no colostro das éguas (THOMPSON; PAULI, 1981; KANEKO; HARVEY; BRUSS, 1997), portanto, conforme confirmado neste experimento, espera-se que não ocorra o aumento desta enzima nos neonatos equinos e muares após a ingestão de colostro.

A enzima muscular CK, nos muares, apresentou concentração menor às 12 e 24 horas de vida. Esta enzima pode estar aumentada nas primeiras 24 horas pós-parto, em casos de distocias e traumas (HARVEY, 1990; WILKINS, 2011). O tempo de expulsão dos neonatos muares do presente estudo foi mais rápido quando comparado aos equinos (observação pessoal), o que pode justificar níveis menores neste grupo.

As concentrações dos minerais mensuradas nos neonatos refletem as concentrações presentes no leite materno (AOKI; ISHII, 2012). O colostro ofertado pelas éguas é composto por minerais como: cálcio, fósforo, magnésio, sódio, potássio, zinco e cobre (SCHRYVER et al., 1986; CSAPÓ-KISS et al., 1995). No presente estudo observamos efeito de grupo para as variáveis cálcio e magnésio, apesar de todos os neonatos ingerirem colostro de égua. Podemos supor que o aproveitamento ou absorção nutricional dos muares provavelmente seja diferente

dos equinos, ou uma possível diferença na composição do colostro das éguas prenhes de luar.

6.5 CONCLUSÃO

Este trabalho concluiu que os muales possuem maiores valores para CHCM, plaquetas, albumina, cálcio, cloro, ferro e magnésio; menor contagem de leucócitos totais, neutrófilos segmentados, linfócitos, N:L, fibrinogênio, BT, BI, BD, colesterol e CK quando comparado aos equinos; e valores diferentes entre os grupos ao longo dos tempos para as variáveis hemácias, hematócrito, hemoglobina, leucócitos totais, neutrófilos segmentados, glicose, ureia, albumina, triglicérides, colesterol, CK e ferro.

REFERÊNCIAS

- AOKI, T.; ISHII, M. Hematological and Biochemical Profiles in Peripartum Mares and Neonatal Foals (Heavy Draft Horse). **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 32, n. 3, p. 170–176, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jevs.2011.08.015>>.
- AXON, J. E.; PALMER, J. E. Clinical Pathology of the Foal. **Veterinary Clinics of North America - Equine Practice**, v. 24, n. 2, p. 357–385, 2008.
- BARTON, M. H. How to Interpret Common Hematologic and Serum Biochemistry Differences Between Neonatal Foals and Mature Horses. In: AAEP Proceedings, Las Vegas. **Anais...** Las Vegas: 2015.
- BAUER, J. E.; ASQUITH, R. L.; KIVIPELTO, J. Serum biochemical indicators of liver function in neonatal foals. **American Journal of Veterinary Research**, v. 50, n. 12, p. 2037–41, 1989.
- BAUER, J. E.; HARVEY, J. W.; ASQUITH, R. L.; MCNULTY, P. K.; KIVIPELTO, J. Clinical chemistry reference values of foals during the first year of life. **Equine Veterinary Journal**, v. 16, p. 361–363, 1984.
- CHANEY, K. P.; HOLCOMBE, S. J.; SCHOTT, H. C.; BARR, B. S. Spurious hypercreatininemia: 28 neonatal foals (2000-2008). **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 20, n. 2, p. 244–249, 2010.
- CLEMMONS, R. M.; DORSEY-LEE, M. R.; GORMAN, N. T.; STURTEVANT, F. C. Haemostatic mechanisms of the newborn foal: Reduced platelet responsiveness. **Equine Veterinary Journal**, v. 16, n. 4, p. 353–356, 1984.
- CSAPÓ-KISS, Z.; STEFLER, J.; MARTIN, T. G.; MAKRAY, S.; CSAPÓ, J. Composition of mares' colostrum and milk. Protein content, amino acid composition and contents of macro and micro-elements. **International Dairy Journal**, v. 5, n. 4, p. 403–415, 1995.
- DIAS, D. C. **Hematologia e bioquímica sérica em muares**. 2014. 102 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.
- FARIAS, K. **Muares estão em alta no mercado rural**. Disponível em: <<http://www.opopular.com.br/editorias/economia/muares-estao-em-alta-no-mercado-rural-1.688407>>. Acesso em: 2 jul. 2017.
- GEORGE, L. A.; STANIAR, W. B.; TREIBER, K. H.; HARRIS, P. A.; GEOR, R. J. Insulin sensitivity and glucose dynamics during pre-weaning foal development and in response to maternal diet composition. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 37, n. 1, p. 23–29, 2009.

- GIRARDI, A. M.; TOLEDO, C. Z. P.; SABES, A. F.; OLIVEIRA, J. A.; MARQUES, L. C. Serum protein fractions, hematological and biochemical variables of the Pêga donkey (*Equus asinus*) breed in the first year of age. **Veterinarski Arhiv**, v. 86, n. 3, p. 335–349, 2016.
- GUL, S.; AHMAD, M.; KHAN, A.; HUSSAIN, I. Haemato-Biochemical Observations in Apparently Healthy Equine Species. **Pakistan Vet. Journal**, v. 27, n. 4, p. 155–158, 2007.
- HARVEY, J. W. Normal hematologic values. In: KOTERBA, A.; DRUMMOND, W.; KOSCH, P. **Equine clinical neonatology**. 1st. ed. Philadelphia: Lea&Febiger, 1990. p. 561–570.
- HARVEY, J. W.; ASQUITH, R. L.; MCNULTY, P. K.; KIVIPELTO, J.; BAUER, J. E. Haematology of foals up to one year old. **Equine Veterinary Journal**, v. 16, n. 4, p. 347–353, 1984.
- KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 5th. ed. London: Academic Press, 1997.
- KNOTTENBELT, D. C.; HOLDSTOCK, N.; MADIGAN, J. E. **Equine Neonatology: Medicine and Surgery**. 1. ed. [s.l.] Elsevier, 2004.
- LEE, P.; BROWN, M. E.; HUTZLER, P. T. Blood volume changes and production and destruction of Erythrocytes in newborn dogs. **American journal of veterinary research**, v. 37, n. 5, p. 561–565, 1976.
- LESTER, G. D. Maturity of the neonatal foal. **Veterinary Clinics of North America - Equine Practice**, v. 21, n. 2, p. 333–355, 2005.
- MCLEAN, A. K.; WANG, W. Pilot study comparing hematologic and serum biochemical parameters in healthy horses (*Equus caballus*) and mules. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 33, n. 5, p. 353–354, maio 2013. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S073708061300186X>>.
- MCLEAN, A. K.; WANG, W.; NAVAS-GONZALEZ, F. J.; RODRIGUES, J. B. Reference intervals for hematological and blood biochemistry reference values in healthy mules and hinnies. **Comparative Clinical Pathology**, v. 25, n. 4, p. 871–878, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00580-016-2276-3>>.
- OLIVEIRA, L. **História dos muares no Brasil**. Disponível em: <<http://jumentoemuar.blogspot.com.br/2011/09/historia-dos-muares-no-brasil.html>>. Acesso em: 2 jul. 2017.
- PALMER, J. E. Recognition and Resuscitation of the Critical ill foal. In: **Equine Neonatal Medicine: A Case-Based Approach**. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2006. p. 121–134.

RIBEIRO, K. **Muare para lida e o lazer**. Disponível em: <<http://www.opopular.com.br/editorias/economia/muare-para-lida-e-o-lazer-1.1212583>>. Acesso em: 16 jul. 2017.

SCHRYVER, H. F.; OFTEDAL, O. T.; WILLIAMS, J.; SODERHOLM, L. V.; HINTZ, H. F. Lactation in the Horse: The Mineral Composition of Mare Milk. **The Journal of Nutrition**, v. 116, n. 1985, p. 2142–2147, 1986. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3794822>>.

SGORBINI, M.; BONELLI, F.; ROTA, A.; BARAGLI, P.; MARCHETTI, V.; CORAZZA, M. Hematology and Clinical Chemistry in Amiata Donkey Foals from Birth to 2 Months of Age. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 33, n. 1, p. 35–39, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jevs.2012.04.010>>.

SGORBINI, M.; CRISCI, A.; FALCONCINI, A.; ROTA, A.; CORAZZA, M. Valutazione dei dati semeiologici e di alcuni parametri ematologici e biochimici nel puledro di asino sorcino crociato dell'amiata alla nascita. In: Atti del Congresso Nazionale SISVET, Udine. **Anais...** Udine: 2009.

SIMMONS, M. A.; BATTAGLIA, F. C.; MESCHIA, G. Placental transfer of glucose. **J Dev Physiol**, v. 1, n. 3, p. 227–243, 1979.

STAMMERS, J. P.; HULL, D.; SILVER, M.; FOWDEN, A. L.; OUSEY, J.; ROSSDALE, P. D. Release of lipid from the equine placenta during in vitro incubation. **Placenta**, v. 15, n. 8, p. 857–872, 1994.

THOMPSON, J. C.; PAULI, J. V. Colostral transfer of gamma glutamyl transpeptidase in calves. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 29, p. 223–226, 1981.

VERONESI, M. C.; GLORIA, A.; PANZANI, S.; SFIRRO, M. P.; CARLUCCIO, A.; CONTRI, A. Blood analysis in newborn donkeys: Hematology, biochemistry, and blood gases analysis. **Theriogenology**, v. 82, n. 2, p. 294–303, 2014.

WEISS, D. J.; WARDROP, K. J. **Schalm's Veterinary Hematology**. 6. ed. [s.l.] Wiley-Blackwell, 2010.

WILKINS, P. A. The Equine Neonatal Intensive Care Laboratory: Point-of-Care Testing. **Clinics in Laboratory Medicine**, v. 31, n. 1, p. 125–137, mar. 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cll.2010.11.001>>.

7 ARTIGO III – PERFIL OXIDATIVO E ANTIOXIDANTE EM NEONATOS MUARES: UM COMPARATIVO COM EQUINOS.

RESUMO

Logo após o nascimento ocorre uma mudança súbita do ambiente intrauterino para o extrauterino, que expõe os neonatos a eventos fisiológicos de adaptação e à condições oxidativas, que desencadeiam a produção de espécies reativas de oxigênio. Esses radicais livres são importantes porém, em excesso ou desequilíbrio, podem desencadear um estresse oxidativo. O objetivo do presente estudo foi acompanhar as alterações fisiológicas do estado oxidativo de neonatos muares saudáveis, comparando com equinos durante o primeiro mês de vida. Foram avaliados dois grupos de neonatos, sendo 11 muares e 11 equinos ao nascimento, com 1, 6, 12 e 24 horas, 7 e 30 dias de vida. Para avaliação do perfil oxidativo foi mensurada a peroxidação lipídica, por meio do teste das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e a oxidação de proteína. O perfil antioxidante foi avaliado a partir da atividade enzimática da glutathione peroxidase (GPx) e superóxido dismutase (SOD), e não enzimática a partir das quantidades séricas de bilirrubina total (BT), indireta (BI) e direta (BD). Não houve interação entre grupo e tempo para nenhuma variável analisada neste estudo. O TBARS foi menor no grupo dos muares, enquanto que a atividade enzimática da GPx foi maior. Ao longo do tempo, observamos uma queda progressiva do TBARS nos neonatos estudados, sendo que a GPx se manteve constante do nascimento até os 7 dias de vida, tendo um aumento significativo aos 30 dias. A oxidação de proteína não teve efeito de tempo e de grupo. Já a SOD, apesar de não ter apresentado efeito de grupo, demonstrou atividade constante entre os tempos analisados, com exceção da 1 hora que teve menor atividade em relação às 6 horas, 7 e 30 dias. Quanto as bilirrubinas, observamos menores concentrações nos muares quando comparados aos equinos. Assim, concluímos que os neonatos muares deste estudo demonstraram atividade oxidativa e capacidade antioxidante diferente dos equinos, sugerindo uma adaptação neonatal diferenciada entre os grupos estudados.

Palavras chave: Peroxidação lipídica. Estresse oxidativo. TBARS. ERO. Bilirrubina.

ARTICLE III - OXIDATIVE AND ANTIOXIDANT PROFILE IN NEWBORN MULES: A COMPARATIVE WITH EQUINE

ABSTRACT

After birth, there is a sudden change from intrauterine to extrauterine environment, which exposes neonates to physiological events of adaptation and oxidative conditions that trigger the production of reactive oxygen species. These free radicals are important but the excess or unbalance can trigger oxidative stress. The aim of the present study was to monitor the physiological alterations of oxidative status in healthy neonate mules, and compare with equine during the first month of life. Two groups of neonates were evaluated: 11 mules and 11 horses at birth, at 1, 6, 12 and 24 hours, 7 and 30 days. To evaluate the oxidative profile, lipid peroxidation was measured using TBARS and protein oxidation. Glutathione peroxidase activity, superoxide dismutase and total, indirect and direct bilirubin were used to evaluate the antioxidant profile. Oxidative profile results showed no interaction between group and time for the analyzed variables. TBARS was lower in mules, while GPx activity was higher. TBARS decreased progressively over time in the studied neonates, with GPx remaining constant from birth to 7 days, with a significant increase at 30 days. Time and group did not affect protein oxidation. SOD did not have a group effect and showed constant activity between analyzed times, except at 1 hour, when activity was lower than 6 hours, 7 and 30 days. Bilirubins were lower in mules. Thus, we conclude that the mules in this study demonstrated different oxidative activity and antioxidant capacity from the horse, suggesting a differentiated neonatal adaptation among the groups studied.

Keywords: Lipid peroxidation. Oxidative stress. TBARS. ROS. Bilirubin.

7.1 INTRODUÇÃO

Logo após o nascimento dos mamíferos, ocorre uma mudança súbita do ambiente intrauterino para extrauterino, que estimula os neonatos a eventos fisiológicos de adaptação e a condições oxidativas, que desencadeiam a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) (MUTINATI et al., 2014). As EROs mais importantes são o radical superóxido ($\cdot\text{O}_2^-$), radical hidroxila ($\cdot\text{OH}$) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (HALLIWELL, 1999). Esses radicais livres são importantes nessa fase de adaptação, porém em excesso ou desequilíbrio podem desencadear um estresse oxidativo, que causa danos estruturais a biomoléculas, proteínas, lipídios, carboidratos e DNA (MARZOCCHI et al., 2005).

É difícil a mensuração das espécies reativas devido a sua meia vida curta. Por isso, como uma forma indireta de mensurar as EROs, podem ser avaliados os produtos do estresse oxidativo como, por exemplo, as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (JANERO, 1990).

Como mecanismo de defesa contra os radicais livres, o organismo possui um sistema de proteção antioxidante, dividido em não enzimático e enzimático. Este último é composto pelas enzimas superóxido dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx) e catalase. A SOD catalisa a dismutação do radical superóxido (O_2^-), que recebe íons de hidrogênio, convertendo em oxigênio e peróxido de hidrogênio (H_2O_2); a GPx e a catalase têm o objetivo de impedir o acúmulo de peróxido de hidrogênio. Esta, por meio das reações de Fenton e Haber-Weiss, geram o radical hidroxila, sendo este o radical com maior potencial reativo, por ser desencadeador de danos oxidativos (BABIOR, 1997; BARREIROS; DAVID, 2006).

Dentre os antioxidantes biológicos de baixo peso molecular, destaca-se a bilirrubina (BABIOR, 1997), inicialmente estudada por Stocker et al. (1987). Atualmente sabe-se que, em condições fisiológicas normais, tem um potente papel antioxidante (ASAD et al., 2001) e é altamente lipofílica, protegendo contra a degradação oxidativa dos lipídios, ou seja a peroxidação lipídica das membranas celulares, conforme demonstrado por Sedlak e colaboradores (2009), que observaram aumento da peroxidação lipídica associado à diminuição da bilirrubina.

Na Medicina Veterinária os estados antioxidante e oxidativo foram estudados em algumas espécies de animais domésticos, com ênfase no período gestacional, no parto e nos neonatos de éguas (SGORBINI et al., 2015; SOUZA, 2016), vacas (GAÁL et al., 2006), ovelhas (RIZZO et al., 2008; SORIANO et al., 2015) e porcas (YIN et al., 2013). Porém não encontramos relatos de perfil oxidativo e antioxidante em muare. Trabalho recente do nosso grupo de pesquisa encontrou diferenças fisiológicas na avaliação comportamental e de vitalidade após o parto entre equinos e muare (dados não publicados), sugerindo que a adaptação ao meio extrauterino ocorre de maneira diferente entre eles. Essa particularidade poderia estar relacionada à diferenças no perfil oxidativo e antioxidante entre as duas espécies.

Desta forma, o objetivo do presente estudo foi acompanhar as alterações fisiológicas do estado oxidativo e as atividades antioxidantes da GPx, SOD e bilirrubinas de neonatos muare saudáveis, comparando com equinos ao nascimento, 1, 6, 12, 24 horas, 7 e 30 dias de vida.

7.2 MATERIAIS E MÉTODOS

7.2.1 Animais

Foram avaliados dois grupos de neonatos, sendo 11 muare e 11 equinos durante duas estações de nascimento (2015/2016 e 2016/2017), todos nascidos na mesma propriedade localizada em Piracaia, São Paulo - Brasil, latitude 23° 03' 14" S e longitude 46° 21' 29". Todos os partos foram acompanhados e os critérios de inclusão utilizados foram: (1) neonatos provenientes de eutocia; (2) neonatos filhos de éguas da raça Mangalarga Paulista; (3) pontuação do score APGAR ≥ 7 ao nascimento (VAALA, 1994); (4) IgG ≥ 800 mg/dL às 24 horas de vida (IgG Check – Teste para detecção de IgG em potros, Vencofarma®, Brasil); (5) neonatos saudáveis nos momentos das coletas (comprovado por exames hematológicos e bioquímicos). O experimento foi aprovado e desenvolvido conforme as diretrizes da Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, sob o protocolo número 6001260715.

7.2.2 Coleta e Armazenamento das Amostras

O sangue foi coletado por venopunção jugular em tubos estéreis a vácuo contendo EDTA (BD Vacutainer®, BD, Brasil) e seco com ativador de coágulo jateado na parede (BD Vacutainer®, BD, Brasil) nos tempos: ao nascimento (imediatamente após expulsão; T0h), 1 hora (T1h), 6 horas (T6h), 12 horas (T12h), 24 horas (T24h), 7 dias (T7d) e 30 dias (T30d) de vida.

Após a coleta, os tubos foram submetidos à centrifugação (151 x g por 10 minutos) para separação do plasma e soro sanguíneo. Foi aliquotado 300 µL de soro em criotubos de cor âmbar de 1,5 mL para análise de bilirrubina total e direta, 100 µL de plasma foram colocados em criotubos de 1,5 mL para análise da atividade da GPx, SOD e oxidação proteica e 300 µL para o teste de TBARS. Todas as amostras foram armazenadas a -20°C para posterior análise no Laboratório de Andrologia do Departamento de Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. As bilirrubinas foram analisadas no Laboratório Clínico do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

7.2.3 Perfil Oxidativo

7.2.3.1 Peroxidação Lipídica e Oxidação de Proteína

Após o descongelamento das alíquotas de plasma sanguíneo, a peroxidação lipídica dos neonatos foi avaliada por meio mensuração das Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS). Essas medidas foram feitas de acordo com protocolo descrito por Ohkawa; Ohishi; Yagi (1979). O método baseia-se na reação de duas moléculas de ácido tiobarbitúrico com uma molécula de malondialdeído (MDA), a altas temperaturas e baixo pH, resultando em um cromogênio rosa que

pode ser quantificado com um espectrofotômetro, com comprimento de onda de 532 nm (Ultrospec 3300 pro®, Amersham Biosciences).

Para a avaliação da oxidação de proteína, a metodologia foi baseada em Odetti et al. (1996) e Levine et al. (1990), utilizando o protocolo modificado e padronizado para plasma sanguíneo na espécie equina por Souza (2016). A mensuração da oxidação ocorreu pela reação entre 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH) e o grupamento carbonil. Ao reagirem, houve formação da base de Schiff para produzir hidrazona, a qual foi quantificada por espectrofotômetro (Ultrospec 3300 pro®, Amersham Biosciences).

7.2.4 Perfil Antioxidante

7.2.4.1 Enzimático

A quantificação da atividade da GPx em soro sanguíneo dos neonatos seguiu a técnica descrita por Nichi e colaboradores (2006). Este método baseia-se na medição do consumo de NADPH. A reação entre um hidroperóxido e glutathiona reduzida (GSH) é induzida, sendo catalisada pela GSPH-Px juntamente com a enzima glutathiona redutase (GSSGr). Esta reação provoca a conversão de dissulfureto de glutathiona (GSSH - glutathiona oxidada) para GSH, que por sua vez consome NADPH, medido em espectrofotômetro (Ultrospec 3300 pro®, Amersham Biosciences).

A atividade enzimática da SOD foi medida indiretamente, por meio da redução do citocromo C pelo ânion superóxido (O_2^-). O sistema xantina-xantina oxidase gerou continuamente O_2^- (que reduziu o citocromo C). O SOD presente na amostra competiu com o citocromo C convertendo o radical livre de superóxido para H_2O_2 e O_2^- , diminuindo assim a taxa de redução do citocromo C, segundo técnica proposta por Flohé; Otting (1984). Durante o ensaio, a absorbância foi determinada a cada 5 minutos em espectrofotômetro (Ultrospec 3300 pro®, Amersham Biosciences) equipado com um regulador de temperatura mantido a 25°C.

7.2.4.2 Não enzimático

As alíquotas de soro após descongelamento foram analisadas com *kit* de reagentes específicos da marca Randox® para Bilirrubina total (BR 3859) e Bilirrubina direta (BR 3807), por método de eletrodo íon seletivo, em analisador bioquímico automático da marca Randox® (modelo Daytona, Reino Unido). A bilirrubina indireta foi obtida pela diferença entre as bilirrubinas total e direta.

7.2.5 Análise Estatística

Foi utilizado o programa *SAS System for Windows 9.3* (SAS, 2000) para análise dos dados. Previamente, os dados foram testados quanto à normalidade dos resíduos (distribuição de Gauss) e homogeneidade das variâncias pelo aplicativo *Guided Data Analysis*. Transformações (logaritmo na base 10, raiz quadrada, quadrado dos valores) foram utilizadas sempre que necessárias.

As variáveis foram analisadas pelo PROC MIXED, utilizando modelo linear misto para medidas repetidas no tempo, sendo considerados efeitos fixos grupo e tempo de vida. O nível de significância utilizado para rejeitar H0 (hipótese de nulidade) para todas as variáveis foi de 5%. Os resultados foram apresentados por médias (médias $\pm$ erro padrão da média) dos dados originais. As variáveis que apresentaram efeito significativo foram submetidas ao teste de Tukey.

7.3 RESULTADOS

7.3.1 Perfil Oxidativo

7.3.1.1 Peroxidação Lipídica e Oxidação de Proteína

Não houve interação entre tempo e grupo para as variáveis TBARS ($p=0,48$) e oxidação de proteína ($p=0,21$; Tabela 20).

A peroxidação lipídica, avaliada pela mensuração do TBARS, sofreu efeito do tempo ($p<0,0001$), apresentando uma queda progressiva (T0h=159,13±16,01; T1h=143,55±10,25; T6h=114,63±7,17; T12h=100,35±9,25; T24h=97,29±10,18; T7d=92,82±13,86; T30d=88,06±6,82), enquanto que a oxidação de proteína não sofreu efeito de tempo (T0h=3,34±1,14; T1h=2,29±0,18; T6h=1,98±0,12; T12h=1,71±0,12; T24h=2,37±0,48; T7d=2,33±0,54; T30d=2,04±0,36; $p=0,05$) (Gráfico 3).

Gráfico 3 - Variação do teste TBARS e oxidação de proteínas nos neonatos do nascimento até 30 dias.

abc Letras minúsculas diferentes no gráfico representam diferença estatística ($p<0,05$)

Unidades de medida: TBARS em ng/mL; Oxidação de Proteína em [] carbonil mm/mg de proteína

T0h: ao nascimento; T1h: 1 hora; T6h: 6 horas; T12h: 12 horas; T24h: 24 horas; T7d: 7 dias; e T30d: 30 dias.

Fonte: (RICCIO, 2017)

Não observamos efeito de grupo para oxidação de proteína ($p=0,37$), enquanto que os valores de TBARS demonstraram diferença entre os grupos ($p=0,01$) (Tabela 18).

Tabela 18 - Média $\pm$ erro padrão do grau de peroxidação lipídica (TBARS) e oxidação de proteína (Ox. Prot.) entre os grupos de neonatos muars e equinos e valores de p do grupo e da interação grupo x tempo.

VARIÁVEIS	GRUPOS		VALOR DE P	
	Muar	Equino	Grupo	Grupo x Tempo
TBARS	107,92 $\pm$ 6,88	118,07 $\pm$ 5,71	0,01	0,48
OX. PROT.	2,27 $\pm$ 0,23	2,27 $\pm$ 0,30	0,37	0,21

p < 0,05 na mesma linha indica diferença significativa

Unidades de medida: TBARS em ng/mL; Oxidação de proteína em [] carbonil mm/mg de proteína

Fonte: (RICCIO, 2017)

7.3.2 Perfil Antioxidante

7.3.2.1 Enzimático

Para as variáveis SOD e GPx não houve interação entre tempo e grupo (SOD, p=0,50; GPx, p=0,36; Tabela 21), porém observamos efeito do tempo em ambas (SOD, p=0,005; GPx, p<0,0001).

Em relação aos valores da SOD todos os tempos foram estatisticamente iguais, com exceção do T1h que apresentou menor atividade em relação ao T6h, T7d e T30d (T0h=41,78 $\pm$ 7,27; T1h=32,64 $\pm$ 6,17; T6h=64,07 $\pm$ 8,11; T12h=51,14 $\pm$ 6,7; T24h=57,9 $\pm$ 7,21; T7d=62,41 $\pm$ 6,87; T30d=58,83 $\pm$ 6,24; p=0,005). Em contrapartida, para a GPx, só observamos diferença no T30d, os demais não diferiram entre si (T0h=69,13 $\pm$ 14,32; T1h=50,33 $\pm$ 6,96; T6h=46,78 $\pm$ 3,62; T12h=49,40 $\pm$ 6,86; T24h=54,93 $\pm$ 5,3; T7d=52,13 $\pm$ 8,28; T30d=124,05 $\pm$ 16,88; p<0,0001) (Gráfico 4).

Gráfico 4 - Variação das atividades enzimáticas da superóxido dismutase (SOD) e glutathiona peroxidase (GPx) em neonatos do nascimento até 30 dias de vida.

^{ab} Letras minúsculas diferentes no gráfico representam diferença estatística para SOD

^{cd} Letras minúsculas diferentes no gráfico representam diferença estatística para GPx

Unidades de medida: SOD e GPx em UI/mL

T0h: ao nascimento; T1h: 1 hora; T6h: 6 horas; T12h: 12 horas; T24h: 24 horas; T7d: 7 dias; e T30d: 30 dias.

Fonte: (RICCIO, 2017)

Já para o efeito do grupo, houve diferença para variável GPx ($p=0,01$), porém esta diferença não foi observada na atividade da SOD ($p=0,18$) (Tabela 19).

Tabela 19 - Média $\pm$ erro padrão da atividade enzimática da superóxido dismutase (SOD) e glutathiona peroxidase (GPx) em neonatos muar e equinos, e valores de p do grupo e da interação grupo e tempo.

VARIÁVEIS	GRUPOS		VALOR DE P	
	Muar	Equino	Grupo	Grupo x Tempo
SOD	49,82 $\pm$ 3,93	56,38 $\pm$ 3,77	0,18	0,50
GPx	70,89 $\pm$ 5,44	57,09 $\pm$ 5,49	0,01	0,36

$p < 0,05$ na mesma linha indica diferença significativa

Unidades de medida: SOD e GPx em UI/mL

Fonte: (RICCIO, 2017)

7.3.2.2 Não enzimático

Em relação as bilirrubinas não houve interação entre tempo e grupo (BT, $p=0,47$; BI, $p=0,32$; BD, $p=0,97$; Tabela 22). Entretanto, houve efeito de tempo para as três variáveis (BT, $p<0,0001$; BI, $p<0,0001$; BD, $p=0,004$).

A bilirrubina total foi estatisticamente superior nos tempos 12h e 24h, diferindo dos tempos 0h, 1h, 7d e 30d ($T0h=1,20\pm0,15$; $T1h=1,11\pm0,12$; $T6h=1,99\pm0,16$; $T12h=2,51\pm0,17$; $T24h=2,96\pm0,28$; $T7d=1,43\pm0,19$; $T30d=0,98\pm0,11$; $p<0,0001$).

A bilirrubina indireta foi significativamente superior nos tempos 12h e 24h, enquanto que as menores concentrações foram nos tempos 0h, 1h, 7d e 30d ($T0h=0,99\pm0,12$; $T1h=0,94\pm0,12$; $T6h=1,75\pm0,15$; $T12h=2,23\pm0,15$; $T24h=2,63\pm0,27$; $T7d=1,06\pm0,16$; $T30d=0,69\pm0,07$; $p<0,0001$).

Já as concentrações da bilirrubina direta foram iguais nos tempos 6h, 12h, 24h, 7d e 30d. O tempo 7d foi igual a todos os demais tempos analisados, com exceção do tempo 0h e 1h ($T0h=0,20\pm0,04$; $T1h=0,16\pm0,03$; $T6h=0,23\pm0,03$; $T12h=0,27\pm0,04$; $T24h=0,33\pm0,04$; $T7d=0,37\pm0,04$; $T30d=0,28\pm0,04$; $p=0,004$) (Gráfico 5).

Gráfico 5 - Variação das bilirrubinas total, direta e indireta nos neonatos do nascimento até 1 mês de vida.

abcd Letras minúsculas diferentes no gráfico representam diferença estatística para BT, BD e BI

Unidades de medida: mg/dL

[]: concentração; BT: bilirrubina total; BD: bilirrubina direta; BI: bilirrubina indireta

T0h: nascimento; T1h: 1 hora; T6h: 6 horas; T12h: 12 horas; T24h: 24 horas; T7d: 7 dias; e T30d: 30 dias de vida

Fonte: (RICCIO, 2017)

Observamos que as três variáveis (BT, BD e BI) sofreram efeito de grupo, conforme descrito na Tabela 20.

Tabela 20 - Média $\pm$ erro padrão das concentrações de BT, BD e BI em neonatos muares e equinos, e valores de p do grupo e da interação grupo e tempo.

VARIÁVEIS	GRUPOS		VALOR DE P	
	Muar	Equino	Grupo	Grupo x Tempo
BT	1,31 $\pm$ 0,09	2,20 $\pm$ 0,13	< 0,0001	0,47
BD	0,18 $\pm$ 0,01	0,36 $\pm$ 0,02	< 0,0001	0,97
BI	1,13 $\pm$ 0,09	1,84 $\pm$ 0,12	< 0,0001	0,32

p < 0,05 na mesma linha indica diferença significativa

Unidades de medida: mg/dL

BT: bilirrubina total; BD: bilirrubina direta; BI: bilirrubina indireta

Fonte: (RICCIO, 2017)

7.4 DISCUSSÃO

O estresse oxidativo ocorre quando há um desequilíbrio entre a atividade oxidativa e a neutralização dos antioxidantes, podendo resultar em lesão celular ou afecções nos recém nascidos (MUTINATI et al., 2014). Poucos são os trabalhos que tem estudado o perfil oxidativo neonatal em Medicina Veterinária e mais raros ainda são os trabalhos efetuados na espécie equina. Assim, este trabalho investigou o perfil oxidativo e antioxidante em neonatos muares saudáveis, comparando com equinos do nascimento até 30 dias de vida.

O MDA é um dos principais marcadores de estresse oxidativo do organismo, sendo o produto da peroxidação lipídica causada pelas EROs. Barreiros; David (2006) associam a redução da peroxidação lipídica com o aumento da atividade enzimática da GPx, concordando com os nossos dados onde os neonatos muares demonstraram uma menor concentração de TBARS associado a maior atividade da GPx, sugerindo um balanço oxidativo diferente entre os muares e equinos, apesar de eficaz em ambos uma vez que todos neonatos estudados eram saudáveis. Nossos dados sugerem uma adaptação ao meio extrauterino diferente nos muares, uma vez que observamos em outro trabalho do nosso grupo de estudos (dados não publicados) uma pontuação maior na avaliação de vitalidade e parâmetros comportamentais diferentes nas primeiras horas de vida entre os muares e equinos.

Nos tempos analisados, obtivemos maiores concentrações do TBARS ao nascimento, 1 e 6 horas de vida, com posterior diminuição às 12, 24 horas, 7 e 30 dias, concordando com os dados observados em neonatos equinos (SOUZA, 2016)

e suínos (Yin et al., 2013) onde foram observados nas primeiras horas de vida maior concentração de TBARS quando comparados aos 7 dias de vida. Enquanto que, em recém-nascidos humanos, a atividade pró oxidativa aumentou do primeiro para o terceiro dia, sendo observado também a presença de marcadores de estresse oxidativo no sangue do cordão umbilical, indicando possível exposição as EROs durante a vida intrauterina (WILINSKA et al., 2015).

No presente estudo, observamos uma queda da peroxidação lipídica antes das 12 horas de vida dos neonatos, sugerindo que haja realmente uma menor peroxidação lipídica nos primeiros momentos pós-parto e/ou um sistema antioxidante mais precoce nos equídeos.

Outra forma de medir os danos causados pelas EROs é a mensuração da oxidação de proteína, porém não observamos efeito de grupo e de tempo, o que nos sugere que neste aspecto os muare são iguais aos equinos. Para a espécie equina, em um trabalho mensurando a oxidação de proteína no terço final da gestação em éguas saudáveis, não foi observada diferença entre o quarto mês antecedente ao parto e a segunda ovulação pós-parto (SOUZA, 2016). Trabalhos com neonatos humanos demonstraram aumento significativo dos produtos da oxidação de proteína na primeira semana de vida de recém nascidos saudáveis, sugerindo ser um evento fisiológico desencadeado pelo parto (BUONOCORE et al., 2002), porém não observamos esse aumento nos neonatos equídeos deste estudo.

O perfil antioxidante dos animais estudados apresentou maior atividade da GPx nos muare, que pode explicar a menor concentração de TBARS observada no mesmo grupo. A redução do TBARS pode ocorrer por uma ação eficaz da atividade da GPx, reduzindo o peróxido de hidrogênio, uma vez que este é um dos radicais responsáveis pelo aumento da peroxidação lipídica (BARREIROS; DAVID, 2006). Quando analisamos o efeito do tempo sobre a atividade enzimática da GPx, obtivemos uma concentração constante do nascimento até os 7 dias de vida. Porém aos 30 dias ocorreu um aumento significativo na atividade da GPx juntamente com uma menor concentração de TBARS, como esperado. Com isso, nossos dados demonstraram que apesar da diferença entre grupos nas concentrações de TBARS e atividade da GPx, todos os neonatos deste estudo estavam em balanço oxidativo durante todos os tempos analisados, pois todos eram saudáveis. Corroborando, Souza (2016) observou em estudo recente com neonatos equinos níveis de TBARS altos ao nascimento, com posterior diminuição até os 7 dias de vida, porém a

atividade enzimática da GPx foi menor ao nascimento com aumento às 12 horas de vida, diferente do observado neste estudo. Já em bezerros, a atividade enzimática da GPx foi a mesma nos tempos estudados: dia do parto, pré ingestão de colostro, 3, 7, 14 e 21 dias de vida (GAÁL et al., 2006).

Não foi observado efeito do grupo na atividade enzimática da SOD, assim sugerindo que a dismutação do radical O_2 , que é convertido em oxigênio e peróxido de hidrogênio (BABIOR, 1997), aconteceu de forma semelhante nos neonatos muares e equinos deste trabalho. Foi também proposto por Kwak et al. (1991), em estudo *in vitro* com células do sistema nervoso, uma atividade inibitória da bilirrubina sobre o radical superóxido, o que causaria uma estabilidade na atividade da SOD, corroborando com os dados observados neste estudo, pois tivemos as maiores concentrações de BI às 6, 12 e 24 horas de vida, sendo que a atividade da SOD não variou nestes momentos. Outros autores demonstraram esta hipótese em experimentos com neonatos humanos (SHEKEEB SHAHAB et al., 2008) e equinos (SOUZA, 2016), uma vez que em ambos os estudos não foram observadas variações na atividade enzimática da SOD, enquanto que a bilirrubina indireta se apresentou elevada.

Nos neonatos equinos, ocorre um aumento fisiológico da bilirrubina indireta durante a primeira semana de vida, provavelmente causada por uma rápida taxa de *turnover* das hemácias fetais (BAUER; ASQUITH; KIVIPELTO, 1989; WILKINS, 2011). No entanto, sabe-se que as bilirrubinas apresentam capacidade antioxidante no plasma sanguíneo humano sendo altamente lipofílica, protegendo as membranas celulares da peroxidação lipídica, conforme relatado por Sedlak e colaboradores (2009), onde ocorreu um aumento da peroxidação lipídica associado a diminuição da bilirrubina. Observamos que os muares deste estudo apresentaram uma menor concentração das bilirrubinas total, indireta e direta quando comparados aos equinos, desta forma, sugerimos que as bilirrubinas estejam sendo utilizadas para inibição do processo de peroxidação lipídica, o que concordaria com menor peroxidação lipídica encontrada nos muares. Também observamos efeito de tempo para as bilirrubinas, onde tivemos baixas concentrações da BT e BI ao nascimento e à 1 hora de vida, com posterior aumento e hiperbilirrubinemia a partir das 12 horas de vida, nos mesmos tempos em que ocorreu uma queda na peroxidação lipídica (TBARS), corroborando com a hipótese de que haja uma inibição desencadeada pelo papel antioxidante da bilirrubina indireta. Souza (2016) também observou em

potros equinos concentrações baixas da BT e BI ao nascimento e posterior aumento às 12 horas de vida. Assim, acreditamos que a bilirrubina indireta tenha um importante papel como antioxidante nas primeiras horas de vida, com posterior aumento fisiológico na primeira semana devido a adaptações e alterações hematológicas nos neonatos, porém são necessários mais estudos para entender o mecanismo fisiológico nos equídeos.

7.5 CONCLUSÃO

Assim, fica demonstrado que os muares estudados neste trabalho apresentaram menor peroxidação lipídica e maior atividade enzimática da GPx, além de menor concentração das bilirrubinas, quando comparado aos equinos. Não houve diferença para SOD e oxidação de proteína.

REFERÊNCIAS

- ASAD, S. F.; SINGH, S.; AHMAD, A.; KHAN, N. U.; HADI, S. M. Prooxidant and antioxidant activities of bilirubin and its metabolic precursor biliverdin: a structure – activity study. **Chemico Biological Interactions**, v. 137, p. 59–74, 2001.
- BABIOR, B. M. Superoxide: a two-edged sword. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 30, p. 141–155, 1997.
- BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Quim. Nova**, v. 29, n. 1, p. 113–123, 2006.
- BAUER, J. E.; ASQUITH, R. L.; KIVIPELTO, J. Serum biochemical indicators of liver function in neonatal foals. **American Journal of Veterinary Research**, v. 50, n. 12, p. 2037–41, 1989.
- BUONOCORE, G.; PERRONE, S.; LONGINI, M.; VEZZOSI, P.; MARZOCCHI, B.; PAFFETTI, P.; BRACCI, R. Oxidative stress in preterm neonates at birth and on the seventh day of life. **Pediatric Research**, v. 52, n. 1, p. 46–49, 2002.
- FLOHÉ, L.; OTTING, F. Formation or removal of oxygen radicals. **Methods Enzymol**, v. 105, p. 92–104, 1984.
- GAÁL, T.; RIBICZEYNÉ-SZABÓ, P.; STADLER, K.; JAKUS, J.; REICZIGEL, J.; KÖVÉR, P.; MÉZES, M.; SÜMEGHY, L. Free radicals, lipid peroxidation and the antioxidant system in the blood of cows and newborn calves around calving. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 143, n. 4, p. 391–396, abr. 2006. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S109649590500312X>>.
- HALLIWELL, B. Oxygen and nitrogen are pro-carcinogens. Damage to DNA by reactive oxygen, chlorine and nitrogen species: measurement, mechanism and the effects of nutrition. **Mutation Research**, v. 443, p. 37–52, 1999.
- JANERO, D. R. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 9, p. 515–540, 1990.
- KWAK, J. Y.; TAKESHIGE, K.; CHEUNG, B. S.; MINAKAMI, S. Bilirubin inhibits the activation of superoxide-producing NADPH oxidase in a neutrophil cell-free system. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1076, n. 3, p. 369–373, 1991.
- LEVINE, R. L.; GARLAND, D.; OLIVER, C. N.; AMICI, A.; CLIMENT, I.; LENZ, A. G.; AHN, B. W.; SHALTIEL, S.; STADTMAN, E. R. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. **Methods Enzymol**, v. 186, p. 464–478, 1990.

MARZOCCHI, B.; PERRONE, S.; PAFFETTI, P.; MAGI, B.; BINI, L.; TANI, C.; LONGINI, M.; BUONOCORE, G. Nonprotein-Bound Iron and Plasma Protein Oxidative Stress at Birth. **Pediatric Research**, v. 58, n. 6, p. 1295–1299, 2005.

MUTINATI, M.; PANTALEO, M.; RONCETTI, M.; PICCINNO, M.; RIZZO, A.; SCIORSCI, R. L. Oxidative stress in neonatology: A review. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 49, n. 1, p. 7–16, 2014.

NICHI, M.; BOLS, P. E. J.; ZÜGE, R. M.; BARNABE, V. H.; GOOVAERTS, I. G. F.; BARNABE, R. C.; CORTADA, C. N. M. Seasonal variation in semen quality in *Bos indicus* and *Bos taurus* bulls raised under tropical conditions. **Theriogenology**, v. 66, n. 4, p. 822–828, 2006.

ODETTI, P.; GARIBALDI, S.; GURRERI, G.; ARAGNO, I.; DAPINO, D.; PRONZATO, M. A.; MARINARI, U. M. Protein oxidation in hemodialysis and kidney transplantation. **Metabolism**, v. 45, n. 11, p. 1319–1322, 1996.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, v. 95, n. 2, p. 351–358, 1979.

RIZZO, A.; MUTINATI, M.; SPEDICATO, M.; MINOIA, G.; TRISOLINI, C.; JIRILLO, F.; SCIORSCI, R. L. First demonstration of an increased serum level of reactive oxygen species during the peripartal period in the ewes. **Immunopharmacology and immunotoxicology**, v. 30, n. 4, p. 741–6, 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18975384>>.

SEDLAK, T. W.; SALEH, M.; HIGGINSON, D. S.; PAUL, B. D.; JULURI, K. R.; SNYDER, S. H. Bilirubin and glutathione have complementary antioxidant and cytoprotective roles. In: Proceedings of the National Academy of Sciences, 13, **Anais...**2009. Disponível em: <<http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0813132106>>.

SGORBINI, M.; BONELLI, F.; ROTA, A.; MARMORINI, P.; BIAGI, G.; CORAZZA, M.; PASQUINI, A. Maternal and neonatal evaluation of derivated reactive oxygen metabolites (d-ROMs) and biological antioxidant potential in the horse. **Theriogenology**, v. 83, n. 1, p. 48–51, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.07.041>>.

SHEKEEB SHAHAB, M.; KUMAR, P.; SHARMA, N.; NARANG, A.; PRASAD, R. Evaluation of oxidant and antioxidant status in term neonates: A plausible protective role of bilirubin. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 317, n. 1–2, p. 51–59, 2008.

SORIANO, V. S.; E SÁ, J.; JUNIOR, H. P. R.; TORBITZ, V. D.; MORESCO, R. N.; STEFANI, L. M.; DA SILVA, A. S. Postpartum nitric oxide, oxidants and antioxidants levels in ewes and their lambs. **Small Ruminant Research**, v. 123, n. 1, p. 13–16, jan. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2014.09.010>>.

SOUZA, D. F. **Avaliação do equilíbrio oxidativo na gestação e perinatologia equina**. 2016. 79 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

STOCKER, R.; YAMAMOTO, Y.; MCDONAGH, A. F.; GLAZER, A. N.; AMES, B. N. Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. **Science**, v. 27, n. 4792, p. 1043–1046, 1987.

VAALA, W. E. Peripartum asphyxia. **The Veterinary clinics of North America. Equine practice**, v. 10, n. 1, p. 187–218, 1994.

WILINSKA, M.; BORSZEWSKA-KORNACKA, M. K.; NIEMIEC, T.; JAKIEL, G. Oxidative stress and total antioxidant status in term newborns and their mothers. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**, v. 22, n. 4, p. 736–740, 2015.

WILKINS, P. A. The Equine Neonatal Intensive Care Laboratory: Point-of-Care Testing. **Clinics in Laboratory Medicine**, v. 31, n. 1, p. 125–137, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cll.2010.11.001>>.

YIN, J.; REN, W.; LIU, G.; DUAN, J.; YANG, G.; WU, L.; LI, T.; YIN, Y. Birth oxidative stress and the development of an antioxidant system in newborn piglets. **Free Radical Research**, v. 47, n. 12, p. 1027–1035, 2013. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/10715762.2013.848277>>.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Tendo em vista as diferenças encontradas entre as espécies, este estudo oferece dados de referência comportamentais, hematológicos, bioquímicos e oxidativos para muareis saudáveis no primeiro mês de vida, podendo ser útil para o diagnóstico e tratamento de neonatos muareis comprometidos.

REFERÊNCIAS

- ACWORTH, N. R. J. The healthy neonatal foal: routine examinations and preventative medicine. **Equine Veterinary Education**, v. 6, p. 45–49, 2003. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.2042-3292.2003.tb01813.x>>.
- AITKEN, R. J.; BAKER, M. a. Oxidative stress and male reproductive biology. **Reproduction, fertility, and development**, v. 16, n. 5, p. 581–8, 2004.
- ALESSANDRO, A. G. D.; CASAMASSIMA, D.; PALAZZO, M.; JIRILLO, F.; JIRILLO, E.; MARTEMUCCI, G. Values of energetic, proteic and hepatic serum profiles in neonatal foals of the Martina Franca donkey breed. **Macedonian Journal of Animal Science**, v. 2, n. 2, p. 213–217, 2012.
- APGAR, V. A proposal for a new method of evaluation of the newborn infant. **Curr.Res.Anesth.Analg**, v. 32, n. 4, p. 260–267, 1953.
- ASAD, S. F.; SINGH, S.; AHMAD, A.; KHAN, N. U.; HADI, S. M. Prooxidant and antioxidant activities of bilirubin and its metabolic precursor biliverdin: a structure – activity study. **Chemico Biological Interactions**, v. 137, p. 59–74, 2001.
- AXON, J. E.; PALMER, J. E. Clinical Pathology of the Foal. **Veterinary Clinics of North America - Equine Practice**, v. 24, n. 2, p. 357–385, 2008.
- AZIZ, N.; NOVOTNY, J.; OBORNA, I.; FINGEROVA, H.; BREZINOVA, J.; SVOBODOVA, M. Comparison of chemiluminescence and flow cytometry in the estimation of reactive oxygen and nitrogen species in human semen. **Fertility and sterility**, v. 94, n. 7, p. 2604–8, 2010.
- BABIOR, B. M. Superoxide: a two-edged sword. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 30, p. 141–155, 1997.
- BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Quim. Nova**, v. 29, n. 1, p. 113–123, 2006.
- BARTON, M. H. How to Interpret Common Hematologic and Serum Biochemistry Differences Between Neonatal Foals and Mature Horses. In: AAEP Proceedings, Las Vegas. **Anais...** Las Vegas: 2015.
- BARTON, M. H.; LEROY, B. E. Serum Bile Acids Concentrations in Healthy and Clinically Ill Neonatal Foals. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 21, n. 3, p. 508–513, 2007. Disponível em: <<http://www3.interscience.wiley.com/journal/120715472/abstract>>.

BAUER, J. E.; ASQUITH, R. L.; KIVIPELTO, J. Serum biochemical indicators of liver function in neonatal foals. **American Journal of Veterinary Research**, v. 50, n. 12, p. 2037–41, 1989.

BAUER, J. E.; HARVEY, J. W.; ASQUITH, R. L.; MCNULTY, P. K.; KIVIPELTO, J. Clinical chemistry reference values of foals during the first year of life. **Equine Veterinary Journal**, v. 16, p. 361–363, 1984.

BIANCHI, M. D. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, v. 12, n. 2, p. 123–130, 1999.

BRINSKO, S. P.; BLANCHARD, T. L.; VARNER, D. D.; SCHUMACHER, J.; LOVE, C. C.; HINRICHS, K.; HARTMAN, D. **Manual of Equine Reproduction**. 3. ed. [s.l.] Mosby Elsevier, 2011. 336p.

CASTAGNETTI, C.; PIRRONE, A.; MARIELLA, J.; MARI, G. Venous blood lactate evaluation in equine neonatal intensive care. **Theriogenology**, v. 73, n. 3, p. 343–357, 2010.

CHANEY, K. P.; HOLCOMBE, S. J.; SCHOTT, H. C.; BARR, B. S. Spurious hypercreatininemia: 28 neonatal foals (2000-2008). **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 20, n. 2, p. 244–249, 2010.

CORLEY, K. T. T.; DONALDSON, L. L.; FURR, M. O. Arterial lactate concentration, hospital survival, sepsis and SIRS in critically ill neonatal foals. **Equine veterinary journal**, v. 37, n. 1, p. 53–59, 2005.

FAO. **Live Animals**. Disponível em:
<<http://faostat.fao.org/site/573/DesktopDefault.aspx?PageID=573#ancor%3E>>.
Acesso em: 30 maio. 2017.

FARIAS, K. **Muare estão em alta no mercado rural**. Disponível em:
<<http://www.opopular.com.br/editorias/economia/muare-estao-em-alta-no-mercado-rural-1.688407>>. Acesso em: 2 jul. 2017.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Rev. Ass Med Brasil**, v. 43, n. 1, p. 61–68, 1997.

FRANKLIN, R. P. Identification and treatment of the high-risk foal. In: Proceedings of the 53rd annual convention of the American Association of Equine Practitioners, **Anais...**2007.

GAÁL, T.; RIBICZEYNÉ-SZABÓ, P.; STADLER, K.; JAKUS, J.; REICZIGEL, J.; KÖVÉR, P.; MÉZES, M.; SÜMEGHY, L. Free radicals, lipid peroxidation and the antioxidant system in the blood of cows and newborn calves around calving. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 143, n. 4, p. 391–396, abr. 2006. Disponível em:
<<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S109649590500312X>>.

GIRARDI, A. M.; TOLEDO, C. Z. P.; SABES, A. F.; OLIVEIRA, J. A.; MARQUES, L. C. Serum protein fractions, hematological and biochemical variables of the Pêga donkey (*Equus asinus*) breed in the first year of age. **Veterinarski Arhiv**, v. 86, n. 3, p. 335–349, 2016.

GRONDIN, T. M.; DEWITT, S. F. Normal Hematology of the Horse and Donkey. In: **Schalm's Veterinary Hematology**. 6. ed. [s.l.] Wiley-Blackwell, 2010. p. 821–828.

HALLIWELL, B. Oxygen and nitrogen are pro-carcinogens. Damage to DNA by reactive oxygen, chlorine and nitrogen species: measurement, mechanism and the effects of nutrition. **Mutation Research**, v. 443, p. 37–52, 1999.

HARVEY, J. W. Normal hematologic values. In: KOTERBA, A.; DRUMMOND, W.; KOSCH, P. (Ed.). **Equine clinical neonatology**. Philadelphia: Lea&Febiger, 1990. p. 561–570.

HARVEY, J. W.; ASQUITH, R. L.; MCNULTY, P. K.; KIVIPELTO, J.; BAUER, J. E. Haematology of foals up to one year old. **Equine Veterinary Journal**, v. 16, n. 4, p. 347–353, 1984.

HUSSAIN, S. P.; HOFSETH, L. J.; HARRIS, C. C. Radical causes of cancer. **Nature Publishing Group**, v. 3, p. 276–285, 2003.

JEFFCOTT, L. B.; ROSSDALE, P. D.; LEADON, D. P. Haematological changes in the neonatal period of normal and induced premature foals. **J Reprod Fertil**, v. 32, p. 537–544, 1982.

KNOTTENBELT, D. C.; HOLDSTOCK, N.; MADIGAN, J. E. **Equine Neonatology: Medicine and Surgery**. 1. ed. [s.l.] Elsevier, 2004.

KRAMER, J. W. Normal hematology of the horse. In: FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. **Schalm's Veterinary Hematology**. 5 ed. Denmark: Blackwell Publishing, 2006. p. 1069–1074.

LÁZÁR, L. The Role of Oxidative Stress in Female Reproduction and Pregnancy. In: LUSHCHAK, V. I.; GOSPODARYOV, D. V. (Ed.). **Oxidative Stress and Diseases**. [s.l.: s.n.], 2012. p. 313–336

LESTER, G. D. Maturity of the neonatal foal. **Veterinary Clinics of North America - Equine Practice**, v. 21, n. 2, p. 333–355, 2005.

LOURENÇO, M. L. G.; MACHADO, L. H. A. Características do período de transição fetal-neonatal e particularidades fisiológicas do neonato canino. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 37, n. 4, p. 303–308, 2013.

MALTI, N.; MERZOUK, H.; MERZOUK, S. A.; LOUKIDI, B.; KARAOUZENE, N.; MALTI, A.; NARCE, M. Oxidative stress and maternal obesity: Feto-placental unit interaction. **Placenta**, v. 35, n. 6, p. 411–416, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.placenta.2014.03.010>>.

MARSEGLIA, L.; D'ANGELO, G.; MANTI, S.; ARRIGO, T.; BARBERI, I.; REITER, R. J.; GITTO, E. Oxidative Stress-Mediated Aging during the Fetal and Perinatal Periods. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2014, p. 1–8, 2014. Disponível em: <<http://www.hindawi.com/journals/omcl/2014/358375/>>.

MCCUE, P. M.; FERRIS, R. A.; SWAIN, E. A.; LANDOLT, G. A. **Foal Formulary and Field Protocol Guide**. 1. ed. Colorado: Colorado State University, 2017.

MCKINNON, A. O.; SQUIRES, E. L.; VAALA, W. E.; VARNER, D. D. **Equine Reproduction**. 2. ed. [s.l.: Wiley-Blackwell], 2011. 3288p.

MENEZES, M. L.; MOREIRA, C. G.; SCHIMIDT, B. L. U.; BRANDI, R. A.; IANNI, A. C.; CANCIAN, P. H.; LIMA, M. C. Particularidades dos muares - uma revisão. **Revista Brasileira de Medicina Equina**, v. 8, p. 16–20, 2013.

OLIVEIRA, L. **História dos muares no Brasil**. Disponível em: <<http://jumentoemuar.blogspot.com.br/2011/09/historia-dos-muares-no-brasil.html>>. Acesso em: 2 jul. 2017.

ORSINI, J. A.; DIVERS, T. J. **Equine Emergencies: Treatment and Procedures**. 4th. ed. [s.l.] W.B. Saunders Company, 2013. p. 912

OZSUREKCI, Y.; AYKAC, K. Oxidative Stress Related Diseases in Newborns. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, p. 1–9, 2016. Disponível em: <<http://www.hindawi.com/journals/omcl/2016/2768365/>>.

PALMER, J. E. Recognition and Resuscitation of the Critical ill foal. In: **Equine Neonatal Medicine: A Case-Based Approach**. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2006. p. 121–134.

PALMER, J. E. Neonatal Foal Resuscitation. **Veterinary Clinics of North America - Equine Practice**, v. 23, n. 1, p. 159–182, 2007.

PEREIRA, D. N.; ROCHA, V. L. L.; PROCIANOY, R. S.; AZEREDO, R. C. M.; KERSTING, D.; CARDOZO, A.; LUBIANCA, J. N. Avaliação do pH de sangue de cordão umbilical e sua relação com o escore de APGAR em recém nascidos a termo. **Jornal da Pediatria**, v. 72, n. 3, p. 139–142, 1996.

PIERCE, S. W. Foal Care from Birth to 30 Days: A Practitioner's Perspective. In: 49th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, New Orleans. **Anais...** New Orleans: 2003.

RIBEIRO, K. **Muares para lida e o lazer**. Disponível em: <<http://www.opopular.com.br/editorias/economia/muares-para-lida-e-o-lazer-1.1212583>>. Acesso em: 16 jul. 2017.

ROBLES, R.; PALOMINO, N.; ROBLES, A. Oxidative stress in the neonate. **Early Human Development**, v. 65, n. SUPPL. 2, p. 75–81, 2001.

ROSSDALE, P. D.; OUSEY, J. C.; SILVER, M.; FOWDEN, A. Studies on equine prematurity 6: Guidelines for assessment of foal maturity. **Equine Veterinary Journal**, v. 16, n. 4, p. 300–302, 1984.

SCHAFFER, A. J.; AVERY, M. E. **Diseases of the newborn**. 4. ed. [s.l.] W.B. Saunders Company, 1977.

SCHALM, O. W. **Veterinary hematology**. Philadelphia: Lea&Febiger, 1961.

SEDLAK, T. W.; SALEH, M.; HIGGINSON, D. S.; PAUL, B. D.; JULURI, K. R.; SNYDER, S. H. Bilirubin and glutathione have complementary antioxidant and cytoprotective roles. In: Proceedings of the National Academy of Sciences, 13, **Anais...**2009. Disponível em: <<http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0813132106>>.

SEDLAK, T. W.; SNYDER, S. H. Bilirubin benefits: cellular protection by a biliverdin reductase antioxidant cycle. **Pediatrics**, v. 113, n. 6, p. 1776–82, 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15173506>>.

SGORBINI, M.; BONELLI, F.; ROTA, A.; BARAGLI, P.; MARCHETTI, V.; CORAZZA, M. Hematology and Clinical Chemistry in Amiate Donkey Foals from Birth to 2 Months of Age. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 33, n. 1, p. 35–39, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jevs.2012.04.010>>.

SGORBINI, M.; BONELLI, F.; ROTA, A.; MARMORINI, P.; BIAGI, G.; CORAZZA, M.; PASQUINI, A. Maternal and neonatal evaluation of derivated reactive oxygen metabolites (d-ROMs) and biological antioxidant potential in the horse. **Theriogenology**, v. 83, n. 1, p. 48–51, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.07.041>>.

SGORBINI, M.; CRISCI, A.; FALCONCINI, A.; ROTA, A.; CORAZZA, M. Valutazione dei dati semeiologici e di alcuni parametri ematologici e biochimici nel puledro di asino sorcino crociato dell'amiata alla nascita. In: Atti del Congresso Nazionale SISVET, Udine. **Anais...** Udine: 2009.

SIES, H. Oxidative stress: From basic research to clinical application. **The American Journal of Medicine**, v. 91, n. 3 SUPPL. 3, p. 31–38, 1991.

SORIANO, V. S.; E SÁ, J.; JUNIOR, H. P. R.; TORBITZ, V. D.; MORESCO, R. N.; STEFANI, L. M.; DA SILVA, A. S. Postpartum nitric oxide, oxidants and antioxidants levels in ewes and their lambs. **Small Ruminant Research**, v. 123, n. 1, p. 13–16, jan. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2014.09.010>>.

SOUZA, D. F. **Avaliação do equilíbrio oxidativo na gestação e perinatologia equina**. 2016. 79 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016..

STONEHAM, S. J. Assessing the newborn foal. In: **Equine Neonatal Medicine: A Case-Based Approach**. 1. ed. [Philadelphia: Elsevier Saunders.], 2006. p. 1–11.

TENNENT-BROWN, B. Blood Lactate Measurement and Interpretation in Critically Ill Equine Adults and Neonates. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 30, n. 2, p. 399–413, ago. 2014. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0749073914000303>>.

VAALA, W. Peripartum asphyxia syndrome in foals. In: AAEP Proceedings, **Anais...** 1999. Disponível em: <<http://www.ivis.org/proceedings/aaep/1999/247.pdf?pagewanted=all>>.

VAALA, W. E. Peripartum asphyxia. **The Veterinary clinics of North America. Equine practice**, v. 10, n. 1, p. 187–218, 1994.

VASSALO, F. G.; SILVA, L. S.; LOURENÇO, M. L. G.; CHIACCHIO, S. B. Escore de Apgar: história e importância na medicina veterinária. **Rev. Bras. Reprod. Anim**, v. 38, n. 1, p. 54–59, 2014.

VERONESI, M. C.; GLORIA, A.; PANZANI, S.; SFIRRO, M. P.; CARLUCCIO, A.; CONTRI, A. Blood analysis in newborn donkeys: Hematology, biochemistry, and blood gases analysis. **Theriogenology**, v. 82, n. 2, p. 294–303, 2014.

WELCH, K. D.; DAVIS, T. Z.; EDEN, M. E. Van; AUST, S. D. Deleterious iron-mediated oxidation of biomolecules. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 32, n. 7, p. 577–583, 2002.

WILKINS, P. A. The Equine Neonatal Intensive Care Laboratory: Point-of-Care Testing. **Clinics in Laboratory Medicine**, v. 31, n. 1, p. 125–137, mar. 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cll.2010.11.001>>.

WOODING, F. B. P.; MORGAN, G.; FOWDEN, A. L.; ALLEN, W. R. Separate sites and mechanism for placental transport of calcium, iron and glucose in the equine placenta. **Placenta**, v. 21, n. 7, p. 635–645, 2000.

YIN, J.; REN, W.; LIU, G.; DUAN, J.; YANG, G.; WU, L.; LI, T.; YIN, Y. Birth oxidative stress and the development of an antioxidant system in newborn piglets. **Free Radical Research**, v. 47, n. 12, p. 1027–1035, 17 dez. 2013. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/10715762.2013.848277>>.

APÊNDICES

9 APÊNDICES

9.1 APÊNDICE A - RELAÇÃO ENTRE O PESO DOS NEONATOS E O PESO DOS ANEXOS FETAIS, PARA 27 POTROS MUARES

Tabela 21 - Peso dos neonatos muares ao nascimento e peso dos anexos fetais logo após delivramento, bem como a relação entre eles.

ANIMAL	PESO (Kg)		RELAÇÃO ENTRE PESOS (%)
	NEONATOS	ANEXOS	NEONATOS: ANEXOS FETAIS
1	47	4,7	10
2	48	4,9	9,7
3	41	4,0	10,2
4	41	5,0	8,2
5	40	4,8	8,3
6	36	3,6	10
7	40	3,0	13,3
9	45	4,8	9,3
11	40	3,5	11,4
12	40	3,6	11,1
13	50	4,6	10,8
15	45	2,9	15,5
17	36	3,4	10,5
18	40	4,3	9,3
20	36	5,4	6,6
21	45	4,2	10,7
22	41	4,6	8,91
24	45	3,9	11,5
25	36	3,6	10
26	38	5,6	6,78
27	41	4,6	8,91
28	45	5,0	9
29	50	4,7	11,3
30	41	3,7	11
31	45	4,3	10,4
32	42	3,7	12,3
33	38	3,9	9,7

ANEXOS

10 ANEXOS

10.1 ANEXO A - PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS EM EQUINOS E ASININOS DO NASCIMENTO ATÉ 30 DIAS DE VIDA

Tabela 22 - Valores de referência da série vermelha e plaquetas em equinos (*Equus caballus*) do nascimento até 30 dias de vida.

VARIÁVEIS	TEMPOS					REF.
	0 hora	12 horas	24 horas	7 dias	30 dias	
Hematócrito (%)	40-52	37-49	32-46	28-43	29-41	[2]
	44,8-45,8	-	39,1-41,1	35,1-37	35,6-37,1	[4]
	40-52	--	34-46	31-40	-	[3]
Hemoglobina (g/dL)	-	12,6-17,4	11,7-16,5	11,8-17,6	-	[1]
	13,4-19,9	12,6-17,4	12,0-16,6	10,7-15,8	10,9-15,3	[2]
	12,0-18,0	-	13-15,5	11,5-17,5	-	[3]
Hemácia (x10 ⁶ /μL)	9,3-12,9	9,0-12,0	8,2-11,0	7,4-10,6	7,9-11,1	[2]
	9,0-13,0	-	8-11	7,5-10,5	-	[3]
VCM (fL)	-	36-45	37-49	35-42	35-39	[1]
	37-45	36-45	36-46	35-44	33-40	[2]
	-	-	37-49	-	-	[3]
CHCM (g/dL)	-	33-39	31-38	35-40	33-39	[1]
	33-39	32-40	32-40	35-40	34-40	[2]
	-	-	33-36	-	-	[3]
Plaquetas (x10 ³ /μl)	-	105-448	125-390	98-385	135-458	[1]
	-	105-446	129-409	111-387	136-468	[2]
	100-250	-	125-300	100-400	-	[3]

[1] HARVEY, J. W.; ASQUITH, R. L.; MCNULTY, P. K.; KIVIPELTO, J.; BAUER, J. E. Haematology of foals up to one year old. **Equine Veterinary Journal**, v. 16, n. 4, p. 347–353, 1984.

[2] HARVEY, J. W. Normal hematologic values. In: KOTERBA, A.; DRUMMOND, W.; KOSCH, P. **Equine clinical neonatology**. 1st. ed. Philadelphia: Lea&Febiger, 1990. p. 561–570.

[3] KNOTTENBELT, D. C.; HOLDSTOCK, N.; MADIGAN, J. E. **Equine Neonatology: Medicine and Surgery**. 1. ed. [s.l.] Elsevier, 2004.

Tabela 23 - Valores de referência (média $\pm$ desvio padrão) da série vermelha e plaquetas em asininos (*Equus asinus*) do nascimento até 28 dias de vida.

VARIÁVEIS	TEMPOS						REF.
	< 1 hora	12 horas	24 horas	48 horas	7 dias	28 dias	
Hematócrito (%)	50,2 $\pm$ 2,6	-	42,5 $\pm$ 1,3	40 $\pm$ 2,4	35,3 $\pm$ 2,0	29,3 $\pm$ 1,1	[1]
	46,3 $\pm$ 5,2	42,55 $\pm$ 2,9	41,1 $\pm$ 1,4	39,63 $\pm$ 2,68	33,4 $\pm$ 3,1	-	[2]
Hemoglobina (g/dl)	16,8 $\pm$ 1,1	-	15,1 $\pm$ 2,3	13,5 $\pm$ 0,8	12,6 $\pm$ 1,7	11,4 $\pm$ 1,1	[1]
	18,07 $\pm$ 0,55	16,45 $\pm$ 1,18	15,54 $\pm$ 1,39	15,60 $\pm$ 1,24	13,2 $\pm$ 1,4	-	[2]
	13,6 $\pm$ 1,36	-	-	-	12,6 $\pm$ 1,49	12 $\pm$ 1,1	[3]
Hemácia ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	9,9 $\pm$ 0,8	-	8,9 $\pm$ 1,9	7,4 $\pm$ 1,7	7,4 $\pm$ 1,3	7,7 $\pm$ 1,2	[1]
	9,8 $\pm$ 1,0	9,42 $\pm$ 0,20	8,8 $\pm$ 0,8	8,76 $\pm$ 0,69	7,5 $\pm$ 0,2	-	[2]
	9,11 $\pm$ 0,84	-	-	-	8,27 $\pm$ 0,97	8,74 $\pm$ 0,59	[3]
VCM (fl)	49,8 $\pm$ 2	-	50,7 $\pm$ 2,1	50,3 $\pm$ 2,9	49,7 $\pm$ 2,3	42,6 $\pm$ 1,5	[1]
	47,72 $\pm$ 2,44	46,89 $\pm$ 2,21	45,87 $\pm$ 2,83	45,39 $\pm$ 3,08	45,4 $\pm$ 2,4	-	[2]
CHCM (g/dl)	34,3 $\pm$ 2,0	-	33,9 $\pm$ 1,8	34,2 $\pm$ 1,3	34,2 $\pm$ 1,2	37,3 $\pm$ 1,5	[1]
	38,34 $\pm$ 2,52	38,74 $\pm$ 1,93	39,01 $\pm$ 2,05	39,20 $\pm$ 2,05	39,7 $\pm$ 1,6	-	[2]
Proteína total (g/dl)	4,37 $\pm$ 1,06	5,03 $\pm$ 1,07	4,8 $\pm$ 1,02	5 $\pm$ 0,88	4,96 $\pm$ 0,66	-	[2]
	4,57 $\pm$ 0,96	-	-	-	5,2 $\pm$ 0,59	5,65 $\pm$ 0,42	[3]
Plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	342 $\pm$ 58,2	-	285,6 $\pm$ 43,9	259 $\pm$ 27,8	254,7 $\pm$ 32,5	267,7 $\pm$ 51,7	[1]
	235,4 $\pm$ 74,3	284,5 $\pm$ 94,5	275,1 $\pm$ 60,3	316,8 $\pm$ 87,9	284 $\pm$ 59,1	-	[2]
	404 $\pm$ 143	-	-	-	380 $\pm$ 148	498 $\pm$ 223	[3]

[1] SGORBINI, M.; BONELLI, F.; ROTA, A.; BARAGLI, P.; MARCHETTI, V.; CORAZZA, M. Hematology and Clinical Chemistry in Amiata Donkey Foals from Birth to 2 Months of Age. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 33, n. 1, p. 35–39, 2013.

[2] VERONESI, M. C.; VILLANI, M.; WILSHER, S.; CONTRI, A.; CARLUCCIO, A. A comparative stereological study of the term placenta in the donkey, pony and Thoroughbred. **Theriogenology**, v. 74, n. 4, p. 627–631, 2010.

[3] GIRARDI, A. M.; TOLEDO, C. Z. P.; SABES, A. F.; OLIVEIRA, J. A.; MARQUES, L. C. Serum protein fractions, hematological and biochemical variables of the Pêga donkey (*Equus asinus*) breed in the first year of age. **Veterinarski Arhiv**, v. 86, n. 3, p. 335–349, 2016.

Tabela 24 - Valores de referência da contagem dos leucócitos em equinos (*Equus caballus*) do nascimento até 30 dias de vida.

VARIÁVEIS	TEMPOS					REF.
	0 hora	12 horas	24 horas	7 dias	30 dias	
Leucócitos Totais (x10 ⁶ /μl)	-	6,9-17	4,50-11,50	7,20-13,50	4,60-12,90	[1]
	-	6,9-14,4	4,9-11,7	6,3-13,6	5,3-12,2	[2]
	5,8-6,2	-	7,7-8,7	8,2-9,4	6,8-7,5	[4]
	5,5-11,5	-	-	7,0-12,0	-	[3]
Neutrófilos (x10 ⁶ /μl)	-	5,55-15,82	3,04-9,57	5,02-10,72	1,72-9,74	[1]
	-	5,55-12,38	3,36-9,57	4,35-10,55	2,76-9,27	[2]
	3,5-10	-	3,0-9,6	7,0-10,0	-	[3]
Linfócito (x10 ⁶ /μl)	-	0,46-2,81	0,63-2,06	1,04-3,80	1,78-9,74	[1]
	-	0,46-2,54	0,67-2,17	1,43-2,28	1,73-4,85	[2]
	-	-	1,8-3,0	2,0-4,0	-	[3]
Monócito (x10 ⁶ /μl)	-	0,04-0,49	0,05-0,38	0,02-0,43	0,05-0,71	[1]
	-	0,04-0,43	0,07-0,30	0,03-0,54	0,05-0,63	[2]
	-	-	0,2	-	-	[3]
Eosinófilo (x10 ⁶ /μl)	-	0	0-0,108	0-0,134	0-0,540	[1]
	-	0	0-0,02	0-0,09	0-0,12	[2]
	-	-	0,0-0,1	-	-	[3]
Basófilo (x10 ⁶ /μl)	-	0-0,035	0-0,035	0-0,238	0-0,129	[1]
	-	0-0,02	0-0,03	0-0,18	0-0,08	[2]
	-	-	0,1	-	-	[3]

[1] HARVEY, J. W.; ASQUITH, R. L.; MCNULTY, P. K.; KIVIPELTO, J.; BAUER, J. E. Haematology of foals up to one year old. **Equine Veterinary Journal**, v. 16, n. 4, p. 347–353, 1984.

[2] HARVEY, J. W. Normal hematologic values. In: KOTERBA, A.; DRUMMOND, W.; KOSCH, P. **Equine clinical neonatology**. 1st. ed. Philadelphia: Lea&Febiger, 1990. p. 561–570.

[3] KNOTTENBELT, D. C.; HOLDSTOCK, N.; MADIGAN, J. E. **Equine Neonatology: Medicine and Surgery**. 1. ed. [s.l.] Elsevier, 2004.

[4] SANTOS, F.C.C.; FEIJÓ, L.S.; KASINGER, S.; FREY JUNIOR, F.; CURCIO, B.R.; NOGUEIRA, C.E.W. Hematologic values of Thoroughbred foals from birth to six months of age. **Ciência Animal Brasileira**. v. 15, n. 3, p. 307-312, 2014.

Tabela 25 - Valores de referência (média $\pm$ desvio padrão) da contagem dos leucócitos em asininos (*Equus asinus*) do nascimento até 28 dias de vida.

VARIÁVEIS	TEMPOS						REF.
	< 1 hora	12 horas	24 horas	48 horas	7 dias	28 dias	
Leucócitos Totais (x10 ⁶ /uL)	5,9 $\pm$ 1,5	-	7,3 $\pm$ 0,9	7,9 $\pm$ 1,7	8,4 $\pm$ 0,7	8,3 $\pm$ 1,4	[1]
	7,2 $\pm$ 1,3	6,8 $\pm$ 1,5	7,2 $\pm$ 1,4	8,1 $\pm$ 1,3	9,3 $\pm$ 1,3	-	[2]
	7,9 $\pm$ 2,1	-	-	-	9,3 $\pm$ 2,4	12,5 $\pm$ 5,4	[3]
Neutrófilos (x10 ⁶ /uL)	5,2 $\pm$ 1,5	4,8 $\pm$ 1,5	4,9 $\pm$ 1,1	5,9 $\pm$ 1,3	5,9 $\pm$ 1,0	-	[2]
Linfócitos (x10 ⁶ /uL)	1,4 $\pm$ 0,4	1,8 $\pm$ 0,3	2,0 $\pm$ 0,6	1,8 $\pm$ 0,6	2,7 $\pm$ 0,4	-	[2]
	1,25 $\pm$ 0,58	-	-	-	2,52 $\pm$ 0,95	3,85 $\pm$ 1,1	[3]
Monócitos (x10 ⁶ /uL)	0,097 $\pm$ 0,048	0,119 $\pm$ 0,054	0,127 $\pm$ 0,05	0,218 $\pm$ 0,071	0,255 $\pm$ 0,050	-	[2]
	0,19 $\pm$ 0,08	-	-	-	0,31 $\pm$ 0,17	0,50 $\pm$ 0,28	[3]
Eosinófilos (x10 ⁶ /uL)	0,086 $\pm$ 0,057	0,081 $\pm$ 0,095	0,073 $\pm$ 0,062	0,073 $\pm$ 0,052	0,070 $\pm$ 0,029	-	[2]
	0,09 $\pm$ 0,19	-	-	-	0,11 $\pm$ 0,14	0,22 $\pm$ 0,24	[3]
Basófilos (x10 ⁶ /uL)	0,076 $\pm$ 0,032	0,055 $\pm$ 0,030	0,049 $\pm$ 0,028	0,041 $\pm$ 0,013	0,040 $\pm$ 0,017	-	[2]
	0,00 $\pm$ 0,00	-	-	-	0,01 $\pm$ 0,02	0,01 $\pm$ 0,02	[3]

[1] SGOBINI, M.; BONELLI, F.; ROTA, A.; BARAGLI, P.; MARCHETTI, V.; CORAZZA, M. Hematology and Clinical Chemistry in Amata Donkey Foals from Birth to 2 Months of Age. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 33, n. 1, p. 35–39, 2013.

[2] VERONESI, M. C.; VILLANI, M.; WILSHER, S.; CONTRI, A.; CARLUCCIO, A. A comparative stereological study of the term placenta in the donkey, pony and Thoroughbred. **Theriogenology**, v. 74, n. 4, p. 627–631, 2010.

[3] GIRARDI, A. M.; TOLEDO, C. Z. P.; SABES, A. F.; OLIVEIRA, J. A.; MARQUES, L. C. Serum protein fractions, hematological and biochemical variables of the Pêga donkey (*Equus asinus*) breed in the first year of age. **Veterinarski Arhiv**, v. 86, n. 3, p. 335–349, 2016.

10.2 ANEXO B - PARÂMETROS BIOQUÍMICOS EM EQUINOS E ASININOS DO NASCIMENTO ATÉ 30 DIAS DE VIDA

Tabela 26 - Valores bioquímicos de referência em equinos (*Equus caballus*) do nascimento até 30 dias de vida.

VARIÁVEIS	TEMPOS					REF.
	0 hora	12 horas	24 horas	7 dias	30 dias	
Glicose (mg/dL)	-	116-172	137-193	144-180	141-183	[1]
	-	108-190	121-233	121-192	130-216	[2]
	54-63	-	81-108	-		[3]
Lactato (mmol/L)	-	-	0,7-1,5	-	-	[3]
	3,8 ± 1,9	2,8 ± 1,3	2,1 ± 0,8	1,9 ± 0,7	-	[4]
Ureia (mg/dL)	-	12,0-27,0	9,0-40,0	4,0-20,0	6,0-21,0	[2]
	21-24	-	-	14-24	-	[3]
Creatinina (mg/dL)	-	-	1,2-4,3	1,0-1,7	1,1-1,8	[2]
	-	2,5 ± 0,59	2,0 ± 0,8	1,3 ± 0,20	1,50 ± 0,20	[1]
	1,7-4,19	-	1,8-4,29	0,99-1,69	-	[3]
BT (mg/dL)	-	0,9-2,8	1,3-4,5	0,8-3,0	0,5-1,7	[2]
	0,9-2,8	-	-	1,9-3,3	1,0-1,6	[5]
	0,76-5,78	-	-	0,99-3,33		[3]
FA (IU/L)	-	152-2835	861-2671	137-1169	210-866	[2]
GGT (IU/L)	-	13-39	18-43	14-164	17-99	[2]
	8-33			16-98	14-44	[5]
AST (IU/L)	-	97-315	146-340	237-620	252-440	[2]
CK (IU/L)	-	65-380	40-909	52-143	81-585	[2]
Proteína total (g/dL)	-	5,1-7,8	5,1-7,7	5,1-7,5	5,6-7,8	[1]
	4,4-5,9	5,1-7,6	5,2-8,0	5,2-7,5	5,1-7,1	[2]

	6,4-6,6	-	7,4-7,8	7,5-7,8	7,6-7,8	[6]
Triglicérides (mg/dL)	11-35	-	-	35-200	14-134	[5]
		100-332	108-448	160-418	230-712	[1]
Fibrinogênio (mg/dL)	100-500	100-350	100-400	150-450	200-700	[2]
	302-327	-	270-316	343-387	404-440	[6]

[1] BAUER, J. E.; HARVEY, J. W.; ASQUITH, R. L.; MCNULTY, P. K.; KIVIPELTO, J. Clinical chemistry reference values of foals during the first year of life.

Equine Veterinary Journal, v. 16, p. 361–363, 1984.

[2] HARVEY, J. W. Normal hematologic values. In: KOTERBA, A.; DRUMMOND, W.; KOSCH, P. **Equine clinical neonatology**. 1st. ed. Philadelphia: Lea&Febiger, 1990. p. 561–570.

[3] KNOTTENBELT, D. C.; HOLDSTOCK, N.; MADIGAN, J. E. **Equine Neonatology: Medicine and Surgery**. 1. ed. [s.l.] Elsevier, 2004.

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

[5] BARTON, M.H.; LEROY, B.E. Serum bile acids concentrations in healthy and clinically ill neonatal foals. **J. Vet Intern Med**. v. 21, p. 508-513, 2007

[6] SANTOS, F.C.C.; FEIJÓ, L.S.; KASINGER, S.; FREY JUNIOR, F.; CURCIO, B.R.; NOGUEIRA, C.E.W. Hematologic values of Thoroughbred foals from birth to six months of age. **Ciência Animal Brasileira**. v. 15, n. 3, p. 307-312, 2014.

Tabela 27 - Valores bioquímicos de referência (média $\pm$ desvio padrão) em asininos (*Equus asinus*) do nascimento até 28 dias de vida.

VARIÁVEIS	TEMPOS							REF.
	< 1 hora	12 horas	24 horas	48 horas	7 dias	21 dias	28 dias	
Glicose (mg/dL)	97,6 $\pm$ 37,1	-	128,6 $\pm$ 15,7	126,6 $\pm$ 7,4	109,9 $\pm$ 22,6	-	130 $\pm$ 19,4	[2]
	125,8 $\pm$ 33,3	150,3 $\pm$ 28,8	132,5 $\pm$ 20,4	142,1 $\pm$ 24,6	127,5 $\pm$ 29	119,5 $\pm$ 17,4	-	[3]
	93,7 $\pm$ 24,5	-	-	-	-	-	-	[1]
Lactato (mmol/L)	5,49 $\pm$ 1,36	2,54 $\pm$ 0,44	1,47 $\pm$ 0,39	-	-	-	-	[3]
	2,08 $\pm$ 0,5	-	-	-	-	-	-	[1]
Ureia (mg/dL)	38,4 $\pm$ 14,1	-	32,9 $\pm$ 9	28,3 $\pm$ 8,7	23,4 $\pm$ 6,3	-	24,6 $\pm$ 10,6	[2]
	33,7 $\pm$ 8	35,8 $\pm$ 8,1	33,8 $\pm$ 6,5	24,7 $\pm$ 9,5	19,2 $\pm$ 8,1	20,7 $\pm$ 8,5	-	[3]
Creatinina (mg/dL)	2,4 $\pm$ 0,7	-	1,3 $\pm$ 0,3	1,2 $\pm$ 0,3	0,9 $\pm$ 0,1	-	1,2 $\pm$ 0,3	[2]
	1,67 $\pm$ 0,22	1,51 $\pm$ 0,2	1,45 $\pm$ 0,24	1,25 $\pm$ 0,19	1,02 $\pm$ 0,21	1,03 $\pm$ 0,16	-	[3]
BT (mg/dL)	0,3 $\pm$ 0,2	-	0,3 $\pm$ 0,1	0,4 $\pm$ 0,1	0,5 $\pm$ 0,3	-	0,1 $\pm$ 0,03	[2]
	0,23 $\pm$ 0,1	0,25 $\pm$ 0,11	0,23 $\pm$ 0,1	0,19 $\pm$ 0,05	0,18 $\pm$ 0,03	0,16 $\pm$ 0,03	-	[3]
FA (IU/L)	879,7 $\pm$ 658,3	-	1041,6 $\pm$ 408,1	656 $\pm$ 233,4	378,6 $\pm$ 152,9	-	372,9 $\pm$ 49	[2]
	1065,8 $\pm$ 334,5	1273,8 $\pm$ 346,8	988,2 $\pm$ 211,2	834,6 $\pm$ 172,3	560,4 $\pm$ 165,9	497,6 $\pm$ 174,2	-	[3]
	905,9 $\pm$ 336,5	-	-	-	441 $\pm$ 101,4	-	379,4 $\pm$ 132,7	[4]
GGT (IU/L)	20,5 $\pm$ 7,9	-	35,5 $\pm$ 17	29,4 $\pm$ 11,3	23,2 $\pm$ 11,4	-	14,3 $\pm$ 10	[2]
	26,9 $\pm$ 12,7	32,8 $\pm$ 15,8	38 $\pm$ 17,1	38,9 $\pm$ 17,6	38,7 $\pm$ 13,2	35,1 $\pm$ 12,6	-	[3]
	63,11 $\pm$ 15,7	-	-	-	63,11 $\pm$ 19,5	-	58,33 $\pm$ 20,8	[4]
AST (IU/L)	60,3 $\pm$ 14,6	-	107,9 $\pm$ 26,3	125,1 $\pm$ 57,7	109,7 $\pm$ 43,4	-	114 $\pm$ 31,9	[2]
	171,9 $\pm$ 114,3	263,7 $\pm$ 187,6	336,9 $\pm$ 279,1	375,6 $\pm$ 326,2	263,7 $\pm$ 158,6	227,1 $\pm$ 104	-	[3]
	175,5 $\pm$ 71,3	-	-	-	208,5 $\pm$ 40,1	-	185,9 $\pm$ 33,6	[4]
CK (IU/L)	80,8 $\pm$ 41,1	-	20,2 $\pm$ 16,4	17,4 $\pm$ 13,5	57,4 $\pm$ 24	-	73 $\pm$ 36,3	[2]
	126,1 $\pm$ 74	149,4 $\pm$ 104,3	108 $\pm$ 76,8	123,4 $\pm$ 121	76 $\pm$ 36,4	127,4 $\pm$ 82,3	-	[3]
	315,8 $\pm$ 191,9	-	-	-	321 $\pm$ 247,1	-	315 $\pm$ 140,3	[4]

[1] SGORBINI, M.; CRISCI, A.; FALCONCINI, A.; ROTA, A.; CORAZZA, M. Valutazione dei dati semeiologici e di alcuni parametri ematologici e biochimici nel puledro di asino sorcino crociato dell'amiata alla nascita. In: Atti del Congresso Nazionale SISVET, Udine. **Anais...** Udine: 2009.

[2] SGORBINI, M.; BONELLI, F.; ROTA, A.; BARAGLI, P.; MARCHETTI, V.; CORAZZA, M. Hematology and Clinical Chemistry in Amiata Donkey Foals from Birth to 2 Months of Age. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 33, n. 1, p. 35–39, 2013.

- [3] VERONESI, M. C.; VILLANI, M.; WILSHER, S.; CONTRI, A.; CARLUCCIO, A. A comparative stereological study of the term placenta in the donkey, pony and Thoroughbred. **Theriogenology**, v. 74, n. 4, p. 627–631, 2010.
- [4] GIRARDI, A. M.; TOLEDO, C. Z. P.; SABES, A. F.; OLIVEIRA, J. A.; MARQUES, L. C. Serum protein fractions, hematological and biochemical variables of the Pêga donkey (*Equus asinus*) breed in the first year of age. **Veterinarski Arhiv**, v. 86, n. 3, p. 335–349, 2016.

Tabela 28 - Valores de referência para substâncias eletrolíticas em equinos (*Equus caballus*) do nascimento até 30 dias de vida.

VARIÁVEIS	TEMPOS					REF.
	0 hora	12 horas	24 horas	7 dias	30 dias	
Ferro (mg/L)	-	2,62-4,88	0,68-3,67	0,66-3,15	0,49-2,60	[2]
	3,45-5,92	2,62-4,88	0,78-3,48	0,30-2,73	0,49-2,88	[3]
Sódio (mmol/L)	-	148 ± 15	141 ± 18	142 ± 12	145 ± 9	[3]
	-	-	134-143	-	-	[4]
Potássio (mmol/L)	-	4,4 ± 1,0	4,6 ± 1,0	4,8 ± 1,0	4,6 ± 0,8	[3]
	-	-	3,5-5,5	-	-	[4]
Cloro (mmol/L)	-	105 ± 12	102 ± 12	102 ± 8	103 ± 6	[3]
	-	-	90-105	-	-	[4]
Cálcio (mmol/L)	-	3,20 ± 0,25	2,9 ± 0,25	3,1 ± 0,15	3,05 ± 0,15	[1]
	-	3,20 ± 0,5	2,92 ± 0,5	3,12 ± 0,3	3,04 ± 0,3	[3]
	-	-	2,5-4,0	-	-	[4]
Magnésio (mg/dL)	-	0,62 ± 0,41	0,99 ± 0,74	0,82 ± 0,24	0,82 ± 0,41	[3]
	-	-	0,6-1,0	-	-	[4]
Fósforo (mmol/L)	-	1,52 ± 0,26	1,81 ± 0,29	2,39 ± 0,32	2,29 ± 0,36	[1]
	-	1,5 ± 0,5	1,8 ± 0,6	2,4 ± 0,6	2,3 ± 0,7	[3]
	-	-	2,2-5,2	-	-	[4]

[1] BAUER, J. E.; HARVEY, J. W.; ASQUITH, R. L.; MCNULTY, P. K.; KIVIPELTO, J. Clinical chemistry reference values of foals during the first year of life.

Equine Veterinary Journal, v. 16, p. 361–363, 1984.

[2] HARVEY, J. W.; ASQUITH, R. L.; MCNULTY, P. K.; KIVIPELTO, J.; BAUER, J. E. Haematology of foals up to one year old. **Equine Veterinary Journal**, v. 16, n. 4, p. 347–353, 1984.

[3] HARVEY, J. W. Normal hematologic values. In: KOTERBA, A.; DRUMMOND, W.; KOSCH, P. **Equine clinical neonatology**. 1st. ed. Philadelphia: Lea&Febiger, 1990. p. 561–570.

[4] KNOTTENBELT, D. C.; HOLDSTOCK, N.; MADIGAN, J. E. **Equine Neonatology: Medicine and Surgery**. 1. ed. [s.l.] Elsevier, 2004.

Tabela 29 - Valores de referência (média $\pm$ desvio padrão) para substâncias eletrolíticas em asininos (*Equus asinus*) do nascimento até 28 dias de vida.

VARIÁVEIS	TEMPOS							REF
	< 1 hora	12 horas	24 horas	48 horas	7 dias	21 dias	28 dias	
Sódio (mmol/L)	132,5 $\pm$ 11,6	-	136,6 $\pm$ 3,7	135 $\pm$ 3,8	133,9 $\pm$ 4,1	-	132,5 $\pm$ 4,7	[1]
	137,2 $\pm$ 3,9	136,4 $\pm$ 5,4	135,6 $\pm$ 4,2	135,3 $\pm$ 3,8	133,6 $\pm$ 6	135,2 $\pm$ 2,2	-	[2]
Potássio (mmol/L)	4,5 $\pm$ 0,6	-	4,3 $\pm$ 0,8	4,5 $\pm$ 0,6	4,2 $\pm$ 0,5	-	4,5 $\pm$ 0,3	[1]
	4,34 $\pm$ 0,37	4,28 $\pm$ 0,45	4,14 $\pm$ 0,39	4,53 $\pm$ 0,34	4,55 $\pm$ 0,19	4,71 $\pm$ 0,3	-	[2]
Cloro (mmol/L)	-	-	-	-	-	-	-	[1]
	101,2 $\pm$ 4,3	101,9 $\pm$ 2,8	100,9 $\pm$ 3,1	101,8 $\pm$ 4,2	100,7 $\pm$ 3,7	101,1 $\pm$ 2,4	-	[2]
Cálcio (mg/dL)	10,7 $\pm$ 1,6	-	10,8 $\pm$ 0,9	10,9 $\pm$ 1,1	11,3 $\pm$ 2,3	-	12 $\pm$ 2,1	[1]
	12,1 $\pm$ 0,9	11,6 $\pm$ 0,6	11,7 $\pm$ 0,8	11,9 $\pm$ 1	11,7 $\pm$ 0,5	12 $\pm$ 0,8	-	[2]
Magnésio (mg/dL)	-	-	-	-	-	-	-	[1]
	1,85 $\pm$ 0,45	2,12 $\pm$ 0,31	1,92 $\pm$ 0,24	1,91 $\pm$ 0,33	2,13 $\pm$ 0,48	2,14 $\pm$ 0,44	-	[2]
Fósforo (mg/dL)	4,7 $\pm$ 1,4	-	4,9 $\pm$ 1	5,6 $\pm$ 1,7	7,4 $\pm$ 2,4	-	6,4 $\pm$ 1,7	[1]
	4,09 $\pm$ 0,78	4,47 $\pm$ 0,53	5,05 $\pm$ 1,5	6,48 $\pm$ 1,04	7,16 $\pm$ 1,49	7,11 $\pm$ 0,56	-	[2]

[1] SGORBINI, M.; BONELLI, F.; ROTA, A.; BARAGLI, P.; MARCHETTI, V.; CORAZZA, M. Hematology and Clinical Chemistry in Amiata Donkey Foals from Birth to 2 Months of Age. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 33, n. 1, p. 35–39, 2013.

[2] VERONESI, M. C.; VILLANI, M.; WILSHER, S.; CONTRI, A.; CARLUCCIO, A. A comparative stereological study of the term placenta in the donkey, pony and Thoroughbred. **Theriogenology**, v. 74, n. 4, p. 627–631, 2010.