

BEATRIZ DE MELO JUSTO

**Influência do tipo de parto sobre a qualidade colostrar e  
transferência de imunidade passiva em cães**

São Paulo

2022

BEATRIZ DE MELO JUSTO

**Influência do tipo de parto sobre a qualidade colostrá e transferência de  
imunidade passiva em cães**

**VERSÃO CORRIGIDA**

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

**Área de Concentração:**

Reprodução Animal

**Orientadora:**

Profa. Dra. Camila Infantsi Vannucchi

São Paulo

2022

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)

4261 FMVZ	<p>Justo, Beatriz de Melo Influência do tipo de parto sobre a qualidade colostrar e transferência de imunidade passiva em cães / Beatriz de Melo Justo. – 2022. 68 f. : il.</p> <p>Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Reprodução Animal, São Paulo, 2022.</p> <p>Programa de Pós-Graduação: Reprodução Animal. Área de concentração: Reprodução Animal. Orientadora: Profa. Dra. Camila Infantsi Vannucchi.</p> <p>1. Cães. 2. Neonatologia. 3. Coloostro. 4. Imunidade. I. Título.</p>
--------------	---



## CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Influência do tipo de parto sobre a qualidade colostrálica e transferência de imunidade passiva em cães", protocolada sob o CEUA nº 2245180919 (ID 007777), sob a responsabilidade de **Camila Infantsi Vannucchi e equipe; Beatriz de Melo Justo** - 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 29/04/2020.

We certify that the proposal "Influence of type of delivery on colostrálica quality and passive immunity transfer in dogs", utilizing 30 Dogs (males and females), protocol number CEUA 2245180919 (ID 007777), under the responsibility of **Camila Infantsi Vannucchi and team; Beatriz de Melo Justo** - 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 04/29/2020.

Finalidade da Proposta: [Pesquisa](#)

Vigência da Proposta: de [06/2020](#) a [01/2022](#)

Área: [Reprodução Animal](#)

Origem:	<a href="#">Animais de proprietários</a>			
Espécie:	<a href="#">Cães</a>	sexo:	<a href="#">Fêmeas</a>	idade: <a href="#">2 a 6 anos</a> N: <a href="#">10</a>
Linhagem:	<a href="#">Raças variadas</a>			Peso: <a href="#">15 a 100 kg</a>
Origem:	<a href="#">Animais de proprietários</a>			
Espécie:	<a href="#">Cães</a>	sexo:	<a href="#">Machos e Fêmeas</a>	idade: <a href="#">0 a 3 dias</a> N: <a href="#">20</a>
Linhagem:	<a href="#">Raças variadas</a>			Peso: <a href="#">230 a 1000 g</a>

Local do experimento: Laboratório de Inseminação Artificial Perinatologia e Patologia da Reprodução (Departamento de Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo).

São Paulo, 30 de abril de 2020

Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna  
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade  
de São Paulo

Camilla Mota Mendes  
Vice-Coodenador  
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade  
de São Paulo



## Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia  
Universidade de São Paulo

São Paulo, 05 de outubro de 2022

CEUA N 2245180919

(ID 009765)

Ilmo(a). Sr(a).

Responsável: Camila Infantsi Vannucchi

Área: Reprodução Animal

Título da proposta: "Influência do tipo de parto sobre a qualidade colostrálica e transferência de imunidade passiva em cães".

### CERTIFICADO (Emenda versão de 05/julho/2022)

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 05/julho/2022) da proposta acima referenciada.

Resumo apresentado pelo pesquisador: "Considerando o número amostral inicial utilizado no projeto piloto (n=10 cadelas e n=20 neonatos), foi feita uma avaliação estatística utilizando o programa SAS Power and Sample Size 12. Portanto, para obter um poder estatístico mínimo de 0,8, e demonstrar diferenças significativas entre os dados, o número amostral em cada grupo experimental precisou sofrer um incremento, sendo necessário alcançar um número amostral de, no mínimo, 7 cadelas e 20 neonatos em cada grupo. Ao final do experimento, conseguimos atingir um número experimental de 7 cadelas no grupo de parto vaginal e 10 cadelas no grupo de cesariana eletiva, totalizando 17 cadelas. Quanto aos neonatos, conseguimos alcançar o número experimental de 14 filhotes no grupo de parto vaginal e 20 filhotes no grupo cesariana, totalizando 24 neonatos. "

#### Animais a serem adicionados

Origem: Animais de proprietários

Espécie: Cães

sexo: Fêmeas

idade: 2 a 6 anos

N: 17

Linhagem: Raças variadas

Peso: 15 a 100 kg

#### Animais a serem adicionados

Origem: Animais de proprietários

Espécie: Cães

sexo: Machos e Fêmeas

idade: 0 a 3 dias

N: 34

Linhagem: Raças variadas

Peso: 230 a 1000 g

Comentário da CEUA: Aprovado

Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna  
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade  
de São Paulo

Camilla Mota Mendes  
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade  
de São Paulo

## FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: JUSTO, Beatriz de Melo

Título: **Influência do tipo de parto sobre a qualidade colostrar e transferência de imunidade passiva em cães**

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.

DATA \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

### Banca Examinadora

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

## AGRADECIMENTOS

À minha família: meu pai Luiz e mãe Isabel, que foram essenciais para que eu pudesse realizar essa pós-graduação, me ajudando de toda forma que eles conseguiam. Sem eles tenho certeza de que eu não poderia sequer iniciar o mestrado. Sou muito grata por todo o amor que eles me demonstram diariamente, não poderia pedir por pais melhores. Ao meu irmão, Vinícius, que mesmo longe fisicamente sempre me ajuda. Sinto saudades de você todos os dias, espero que a gente se encontre logo.

À Professora Camila, minha orientadora desde os tempos da graduação na iniciação científica. Graças a ela meu desenvolvimento profissional e acadêmico só cresceu e se aprimorou, me guiando e ajudando até mesmo nas madrugadas quando algum parto estava acontecendo. Muito obrigada por ter me aceitado novamente como sua aluna.

Aos meus colegas de laboratório: Leticia (Lê), sempre disposta a me ajudar em todos os partos e plantões, me ensinou grande parte da prática que eu sei hoje, e, além de ser muito parceira, é sempre a alegria do LIAPP, colocando música, pedindo pizza, dublando os animais e sendo felícia com as cachorras e os filhotes; Patrícia (Patty), por ser essa pessoa divertida; não é possível ficar um minuto na sua presença sem rir, além de sempre estar aberta a ouvir desabafos (e também desabafar); Marcella (Mâ), pelos vários plantões, partos e cesarianas em que esteve presente; Roberto (Beto) por me auxiliar em vários momentos destes últimos meses; Nathalia (Nathi), recém-chegada do LIAPP mas que já mostrou ser uma pessoa muito especial; Daniel (Dani), pela ajuda na estatística; aos membros passados da equipe do laboratório que não citei aqui, mas cada um contribuiu um pouquinho para que este e outros projetos de pesquisa fossem realizados, muito obrigada! Às alunas de IC Juliana e Aline, que me ajudaram em vários partos, reanimações, plantões e análises laboratoriais. Também agradeço aos outros alunos e estagiários que passaram pelo LIAPP, sempre auxiliando em todos os projetos de pesquisa.

Muito obrigada à Cláudia (Clau), sempre muito solícita em me ensinar, tirar dúvidas e ajudar em todo o processo de eletroforese, além de termos várias conversas nos almoços, durante as corridas dos géis e outros momentos tão especiais do dia a dia de que com certeza sentirei falta. À Clara do laboratório de análises clínicas do

HOVET, que desde a IC me auxiliou nas análises de concentrações proteicas das amostras. Agradeço também aos professores do PPGRA e em especial ao professor Marcílio, por toda a ajuda na estatística.

Ao meu amor, Eduardo, que desde o início mostrou como torce pelo meu sucesso e como sempre está presente me ajudando em tudo que pode, até mesmo tentando entender a função do colostro e metodologia da eletroforese ao ouvir meus comentários sobre a pesquisa. Sua companhia durante todo esse tempo foi essencial para mim e foi um dos apoios mais importantes que eu poderia receber. Ter uma pessoa tão inteligente, carinhosa, admirável e amável ao meu lado me traz muita felicidade.

Ao Fred, meu bonitinho, que após sua chegada em minha vida me fez ter outra perspectiva com o cuidado e amor aos animais – não consigo imaginar como todo esse período difícil na pandemia seria se eu não tivesse o Fred para me fazer companhia. Agradeço também ao Zappa, o gatinho mais doce que já conheci, toda vez que o encontro meu dia fica mais alegre.

Às minhas amigas Caroline (Mutley), Letícia (Kabs) e Nicole (Lola), que sempre me apoiaram, torcem por mim e estão sempre presentes para tudo sendo muito parceiras, vocês fazem minha vida mais feliz.

Agradeço, também, aos animais que passaram pelo nosso laboratório. Todos me ensinaram algo diferente e foram essenciais para o desenvolvimento deste estudo e meu desenvolvimento profissional.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.



## RESUMO

JUSTO, B. M. **Influência do tipo de parto sobre a qualidade colostrar e transferência de imunidade passiva em cães** [Influence of the mode of parturition on colostrum quality and neonatal passive immune transfer in dogs] 2022. 68 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022.

A espécie canina possui placenta do tipo endoteliocorial, o que impede a completa transferência de imunidade passiva (TIP) para os fetos. Portanto, os neonatos são hipogamaglobulinêmicos e a ingestão do colostro é essencial. Porém, a produção e qualidade do colostro, bem como a capacidade absorptiva dos neonatos, podem ser afetadas por situações de estresse, mediadas pela concentração de cortisol e catecolaminas, as quais apresentam perfil circulante diferenciado conforme o tipo de parto. Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a qualidade imunológica do colostro e analisar quantitativamente a TIP em filhotes nascidos em distintas condições de parto (cesariana e parto eutócico vaginal) na espécie canina. Para tanto, 17 cadelas e 34 neonatos foram alocados em dois grupos experimentais: Grupo Parto Vaginal (GV,  $n=7$  e  $n=14$ , respectivamente) e Grupo Cesariana Eletiva a termo (GC,  $n=10$  e  $n=20$ , respectivamente). Amostras de colostro e sangue dos neonatos foram colhidas imediatamente após o parto (0 h), às 6 h, 12 h, 24 h e 48 h pós-parto. Nas amostras de colostro, foi determinada a concentração de sólidos totais, proteína total (PT), albumina (ALB), imunoglobulinas G (Ig G) de cadeia pesada (Ig GP) e leve (Ig GL),  $\beta$ -lactoglobulina ( $\beta$ -lac) e  $\alpha$ -lactoalbumina ( $\alpha$ -lac). A partir do soro sanguíneo dos neonatos, foram feitas análises de proteína total, albumina, Ig GP e Ig GL, além das atividades da fosfatase alcalina (FA) e gama glutamil transferase (GGT), como forma indireta de avaliação da TIP. Os resultados foram analisados utilizando-se o Teste t de *Student* para comparação entre grupos, e o teste LSD para análise temporal, considerando  $p<0,05$ . No colostro, o GC apresentou maior ( $p<0,05$ ) concentração de proteína total, em relação ao GV. Da mesma forma, a concentração de albumina colostrar foi superior ( $p<0,05$ ) no Grupo GC às 6 h e 12 h pós-parto. Ambos os grupos apresentaram redução ( $p<0,05$ ) na concentração de sólidos totais, proteína total e Ig GP colostrar ao longo do período experimental, mais acentuadamente às 12 h e 24 h pós-parto. Na análise neonatal, o GC apresentou maior ( $p<0,05$ ) concentração sérica de

proteína total e atividade da FA ao nascimento, 6 h e 12 h de vida, em comparação ao GV. Nas primeiras horas de vida, houve aumento ( $p < 0,05$ ) na concentração sérica de proteína total e atividade de GGT. Os neonatos do grupo parto vaginal apresentaram maior ( $p = 0,06$ ) concentração de Ig GP ao nascimento, comparando-se ao GC. Em ambos os grupos experimentais houve aumento progressivo ( $p < 0,05$ ) das proteínas analisadas, em especial às 12 h e 24 h de vida. Como conclusão, o parto cirúrgico (cesariana) determina melhor qualidade proteica do colostro, bem como melhor capacidade absorptiva das proteínas colostrais pelos neonatos, embora a transferência de imunidade passiva tenha sido satisfatória para todos os neonatos ao longo da colostragem.

**Palavras-chave:** Cães. Neonatologia. Colostro. Imunidade.

## ABSTRACT

JUSTO, B. M. **Influence of the mode of parturition on colostrum quality and neonatal passive immune transfer in dogs** [Influência do tipo de parto sobre a qualidade colostrual e transferência de imunidade passiva em cães] 2022. 68 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022.

The dog has an endotheliochorial placenta, which prevents a fully passive immune transfer (PIT) to the fetus during intra-uterine life. Therefore, puppies are born hypogammaglobulinemics, which renders an essential necessity of colostrum intake. However, the production and quality of canine colostrum, as well as the absorptive capacity of neonates, can be affected by stressful situations, accounted for cortisol and catecholamines interference, which is differently expressed according to the mode of delivery. Thus, the goal of this study was to evaluate the immunological quality of colostrum and quantitatively analyze PIT in puppies born under different delivery conditions (cesarean section and eutocic vaginal delivery) in the canine species. Therefore, 17 bitches and 34 neonates were assigned to two experimental groups: Vaginal Delivery Group (VG,  $n=7$  and  $n=14$ , respectively) and Elective Cesarean Group (CG,  $n=10$  and  $n=20$ , respectively). Colostrum and neonatal blood samples were collected immediately after delivery (0 h), at 6 h, 12 h, 24 h and 48 h postpartum. For colostrum samples, the concentrations of total solids, total protein (TP), albumin (ALB), immunoglobulins G (Ig G) of heavy (Ig GH) and light (Ig GL) chains,  $\beta$ -lactoglobulin ( $\beta$ -lac) and  $\alpha$ -lactalbumin ( $\alpha$ -lac) were measured. Neonatal serum samples were analyzed for total protein, albumin, Ig GH and Ig GL, in addition to alkaline phosphatase (AP) and gamma glutamyl transferase (GGT) activities, as an indirect way to evaluate PIT. The results were analyzed using Student's t test for comparison between groups, and the LSD test for temporal analysis, considering  $p<0.05$ . The CG presented higher ( $p<0.05$ ) colostrum concentration of total protein, in relation to the VG. Likewise, the concentration of colostrual albumin was higher ( $p<0.05$ ) in CG at 6 h and 12 h postpartum. Both groups showed a decrease ( $p<0.05$ ) in total solids concentration, total protein and colostrual Ig GH throughout the experimental period, more markedly at 12 h and 24 h postpartum. The CG presented higher ( $p<0.05$ ) neonatal concentration of total protein and AP activity at birth, 6 h and 12 h of life, compared to the VG. In

the first hours of life, there was an increase ( $p<0.05$ ) in serum concentration of total protein and GGT activity. Neonates of the vaginal delivery group had higher ( $p=0.06$ ) concentration of Ig GH at birth, compared to the CG. In both experimental groups there was a progressive increase ( $p<0.05$ ) of proteins, especially at 12 h and 24 h of life. In conclusion, surgical delivery (cesarean section) renders better colostrum protein content, as well as higher neonatal absorption capacity of colostrum proteins, although passive immune transfer was satisfactory for all neonates throughout colostrum ingestion.

Keywords: Dogs. Neonatology. Colostrum. Immunity.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Representação da molécula de imunoglobulina, contendo as cadeias pesadas e leves, unidas entre si pelas ligações dissulfídricas. Adaptado de Murphy, Travers e Walport, 2010. .... 21
- Figura 2:** Gel de eletroforese SDS-PAGE após corrida e coloração, contendo as bandas proteicas do soro lácteo: Ig G de cadeia pesada (a), Ig G de cadeia leve (b),  $\beta$ -lactoglobulina (c) e  $\alpha$ -lactoalbumina (d). São Paulo, 2022. .... 37
- Figura 3:** Gel de eletroforese SDS-PAGE após corrida e coloração, contendo as bandas proteicas do soro sanguíneo: Ig G de cadeia pesada (a) e Ig G de cadeia leve (b). São Paulo, 2022. .... 38
- Figura 4:** Média e erro padrão da concentração de albumina (g/dL) no colostro das fêmeas do grupo Parto Vaginal e Cesariana Eletiva ao longo do período experimental. São Paulo, 2022. .... 41
- Figura 5:** Média e erro padrão da concentração de proteína total (g/dL) no colostro das fêmeas do grupo Parto Vaginal e Cesariana Eletiva. São Paulo, 2022. .... 42
- Figura 6:** Média e erro padrão da concentração de sólidos totais (%) (A) e proteína total (g/dL) (B) no colostro das fêmeas ao longo do período experimental. São Paulo, 2022. .... 43
- Figura 7:** Média e erro padrão da concentração de imunoglobulina G de cadeia pesada (A) e leve (B) (g/dL) no colostro das fêmeas ao longo do período experimental. São Paulo, 2022. .... 43
- Figura 8:** Média e erro padrão da concentração de  $\beta$ -lactoglobulina (A) e  $\alpha$ -lactoalbumina (B) (g/dL) no colostro das fêmeas ao longo do período experimental. São Paulo, 2022. .... 44
- Figura 9:** Média e erro padrão da glicemia (mg/dL) neonatal nos grupos Parto Vaginal e Cesariana Eletiva ao longo do período experimental. São Paulo, 2022. .... 45
- Figura 10:** Média e erro padrão da atividade neonatal da fosfatase alcalina (U/L) nos grupos Parto Vaginal e Cesariana Eletiva ao longo do período experimental. São Paulo, 2022. .... 46

<b>Figura 11:</b> Média e erro padrão da concentração de imunoglobulina G de cadeia pesada (g/dL) nos neonatos dos grupos Parto Vaginal e Cesariana Eletiva ao longo do período experimental. São Paulo, 2022.....	47
<b>Figura 12:</b> Média e erro padrão da concentração sérica de (A) proteína total (g/dL) e (B) gama glutamil transferase (U/L) dos neonatos ao longo do período experimental. São Paulo, 2022. ....	48
<b>Figura 13:</b> Média e erro padrão da concentração de imunoglobulina G de cadeia leve (g/dL) nos neonatos ao longo do período experimental. São Paulo, 2022.....	49

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Fêmeas alocadas nos grupos experimentais, com as respectivas raças, idades e número de filhotes na ninhada. São Paulo, 2022.....	32
<b>Tabela 2:</b> Valores de probabilidade (P) para o efeito dos grupos (Parto Vaginal vs. Cesariana Eletiva) e tempos (0 h vs. 6 h vs. 12 h vs. 24 h vs. 48 horas pós-parto) e sua interação para as variáveis experimentais colostrais. São Paulo, 2022.....	40
<b>Tabela 3:</b> Média e erro padrão das variáveis do colostro nos grupos Parto Vaginal e Cesariana Eletiva, com seus respectivos valores de probabilidade ( $p$ ). São Paulo, 2022.....	42
<b>Tabela 4:</b> Valores de probabilidade para o efeito dos grupos (Parto Vaginal vs. Cesariana Eletiva) e tempos (0 h vs. 6 h vs. 12 h vs. 24 h vs. 48 horas pós-parto) e sua interação para as variáveis experimentais neonatais. São Paulo, 2022.....	44
<b>Tabela 5:</b> Média e erro padrão das concentrações séricas de proteína total, albumina, atividade de gama glutamil transferase e Ig G de cadeia leve nos neonatos dos grupos Parto Vaginal e Cesariana Eletiva, com seus respectivos valores de probabilidade ( $p$ ). São Paulo, 2022.....	47
<b>Tabela 6:</b> Análises de correlação das variáveis do colostro do grupo Parto Vaginal. São Paulo, 2022.....	63
<b>Tabela 7:</b> Análises de correlação das variáveis do colostro do grupo Cesariana Eletiva. São Paulo, 2022. ....	63
<b>Tabela 8:</b> Análises de correlação das variáveis dos neonatos do grupo Parto Vaginal. São Paulo, 2022.....	64
<b>Tabela 9:</b> Análises de correlação das variáveis dos neonatos do grupo Cesariana Eletiva. São Paulo, 2022. ....	64
<b>Tabela 10:</b> Análises de correlação das variáveis do colostro e dos neonatos do grupo Parto Vaginal. São Paulo, 2022. (continua) .....	65
<b>Tabela 11:</b> Análises de correlação das variáveis do colostro e dos neonatos do grupo Cesariana Eletiva. São Paulo, 2022. (continua).....	67

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	17
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	19
2.1. COLOSTROGÊNESE .....	19
2.2. IMUNOGLOBULINAS E PROTEÍNAS COLOSTRAIS .....	21
2.3. TRANSFERÊNCIA DE IMUNIDADE PASSIVA NA ESPÉCIE CANINA.....	23
2.4. PERÍODO NEONATAL CANINO .....	25
2.5. INFLUÊNCIA DO TIPO DE PARTO NA LACTOGÊNESE E TRANSFERÊNCIA DE IMUNIDADE PASSIVA .....	26
<b>3. HIPÓTESE</b> .....	29
<b>4. OBJETIVOS</b> .....	30
<b>5. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	31
5.1. ANIMAIS E GRUPOS EXPERIMENTAIS .....	31
5.2. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS .....	33
5.2.1. Colostro.....	33
5.2.2. Neonatos.....	34
5.3. ANÁLISES EXPERIMENTAIS .....	34
5.3.1. Colostro.....	34
5.3.1.1. Análise da concentração de proteína total e albumina no soro lácteo.....	35
5.3.1.2. Análise das frações proteicas do soro lácteo.....	35
5.3.2. Neonatos.....	37
5.3.2.1. Análises sanguíneas.....	37
5.3.2.2. Análise da concentração de imunoglobulina G no soro sanguíneo .....	38



5.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	38
<b>6. RESULTADOS.....</b>	<b>40</b>
6.1. COLOSTRO.....	40
6.2. NEONATOS.....	44
6.3. ANÁLISES DE CORRELAÇÃO ENTRE AS VARIÁVEIS EXPERIMENTAIS.....	49
<b>7. DISCUSSÃO .....</b>	<b>51</b>
<b>8. CONCLUSÃO.....</b>	<b>58</b>
<b>9. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>59</b>
<b>10. APÊNDICES.....</b>	<b>63</b>
10.1.APÊNDICE 1.....	63
10.2.APÊNDICE 2.....	64
10.3.APÊNDICE 3.....	65
10.4.APÊNDICE 4.....	67

## 1. INTRODUÇÃO

Os animais domésticos, principalmente os cães, estão mais intimamente presentes no ambiente familiar, levando ao maior interesse pela reprodução e criação de cães. A opção do parto cirúrgico em cadelas é cada vez mais frequente, como forma de garantir a taxa de sobrevivência da mãe e dos filhotes (SMITH, 2007). Porém, os efeitos da cesariana sobre a saúde neonatal são pouco conhecidos, especialmente durante o período adaptativo inicial.

O tipo placentário canino não permite a transferência intraútero adequada de imunoglobulinas para os fetos (BORGHESI *et al.*, 2014), fazendo com que os neonatos caninos sejam hipogamaglobulinêmicos ao nascimento (MILA *et al.*, 2015), ou seja, necessitam ingerir colostro de boa qualidade imunológica para adquirir imunidade passiva satisfatória. A deficiência na transferência de imunidade passiva colostrada contribui para o aumento de mortalidade neonatal (MILA *et al.*, 2014). Entretanto, vários fatores podem influenciar a transferência de imunoglobulinas para os neonatos, desde características maternas importantes (qualidade e quantidade de colostro, comportamento materno, entre outros) até fatores neonatais, como a vitalidade e capacidade para ingerir volume adequado de colostro e, posteriormente, leite. Ademais, a condição obstétrica ao nascimento pode direta ou indiretamente afetar a produção e qualidade do colostro e a colostragem. Sabe-se que os neonatos caninos nascidos por cesariana apresentam menor vitalidade, além de adaptação cardiorrespiratória e metabólica mais tardia (SILVA *et al.* 2008), o que poderia impactar negativamente a adequada ingestão de colostro e, portanto, a transferência de imunidade passiva colostrada. Adicionalmente, as cadelas e seus neonatos apresentam distintos perfis hormonais conforme o tipo de parto (vaginal ou cesariana eletiva), em especial a resposta ao estresse, com padrão circulante de cortisol e catecolaminas distinto (ABREU, 2018). Entretanto, os efeitos de tais fatores sobre a qualidade do colostro e na absorção intestinal de macromoléculas pelos neonatos não é conhecida na espécie canina.

A qualidade colostrada é muito estudada em algumas espécies; entretanto, estudos acerca da influência do tipo de parto sobre as características do colostro e a transferência de imunidade passiva são escassos, tanto nos animais, como

também em humanos. Portanto, justificam-se investigações sobre o impacto do período pré-parto na qualidade do colostro em cadelas e, também, sobre as possíveis influências que o tipo de parto poderia exercer sobre a capacidade absorptiva do colostro pelos neonatos caninos.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

A imunidade passiva adquirida através da placenta é essencial para a adaptação neonatal ao meio extrauterino, pois os anticorpos maternos garantem ao recém-nascido proteção contra infecções nos primeiros meses de vida (TIZARD, 2019). Entretanto, em função das barreiras inerentes aos diversos tipos placentários, algumas espécies animais, como por exemplo a canina, são extremamente dependentes da ingestão e absorção do colostro para a adequada transferência de imunidade passiva (TIZARD, 2019). A imunidade colostrada decorre da absorção intestinal de imunoglobulinas e outros elementos importantes de proteção, tais como leucócitos, fatores de crescimento e hormônios.

### 2.1. COLOSTROGÊNESE

O colostro é o primeiro leite secretado após o parto, rico em proteínas, gordura e principalmente imunoglobulinas. Alguns de seus componentes são sintetizados pelas células epiteliais mamárias (proteínas, lactose, lipídeos) enquanto outros, como imunoglobulinas, leucócitos, hormônios e alguns fatores de crescimento, são oriundos da corrente sanguínea materna. O colostro diferencia-se do leite pela alta concentração de proteínas, sendo duas vezes superior ao leite da segunda semana pós-parto e, sobretudo, rico em imunoglobulinas, concentração ligeiramente maior de lipídeos e menor de carboidratos, com apenas metade da concentração presente no leite (ADKINS; LEPINE; LÖNNERDAL, 2001).

A lactogênese é influenciada por vários hormônios, especialmente insulina, glicocorticoides, hormônio de crescimento (GH) e prolactina. Para que ocorra a formação da estrutura lóbulo-alveolar da glândula mamária, é necessária a sequência endócrina de ação dos estrógenos, associada à progesterona e, sequencialmente, à prolactina e os corticoides, os quais estão presentes no início da gestação (DELOUIS, 1978). A prolactina e GH desempenham papel fundamental no controle da produção de leite na maioria das espécies, incluindo cães e gatos. Embora em ruminantes a influência do GH seja superior à da

prolactina, em cães este último hormônio é fundamental para a lactogênese e galactopoiese (ROMAGNOLI; LOPATE, 2012). Por sua vez, a progesterona possui efeito modulador importante na secreção de prolactina nas cadelas e, quando em altas concentrações, exerce efeito antagônico. Entretanto, sugere-se que os corticoides são capazes de superar o efeito inibitório da progesterona na lactogênese (DELOUIS, 1978). Quando a concentração de progesterona diminui, após o período prolongado do diestro, a secreção de prolactina é estimulada e sua concentração sanguínea eleva-se significativamente (ROMAGNOLI; LOPATE, 2012). Em cadelas gestantes, a concentração de prolactina aumenta ao redor dos 35 dias após o pico de LH, momento no qual a concentração de progesterona sérica diminui, confirmando a importância da progesterona na modulação de liberação da prolactina pela hipófise (VERSTEGEN-ONCLIN; VERSTEGEN, 2008). Portanto, para que a colostrogênese e lactogênese ocorram eficientemente, é necessário haver diminuição dos níveis de progesterona e, conseqüentemente, estímulo dos hormônios do complexo lactogênico. Cabe ressaltar que, nas cadelas, a redução abrupta da concentração sanguínea de progesterona ocorre somente após o início da luteólise pré-parto, ou seja, de 24 h às 48 h prévias ao início da fase expulsiva do parto. Desta maneira, a ação de hormônios estimulatórios da colostrogênese ocorre de forma efetiva nas últimas horas que antecedem o parto nas cadelas.

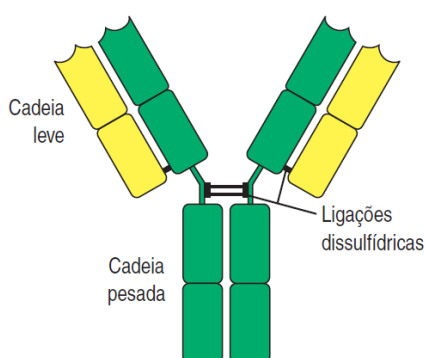
Nas últimas semanas de gestação, as imunoglobulinas G (Ig G) da corrente sanguínea materna são captadas pelas células da glândula mamária, por meio da fixação a receptores específicos *FcRn* (fragmento cristalizável, receptor neonatal), que se acumulam no tecido mamário progressivamente até o final da gestação (CHASTANT-MAILLARD *et al.*, 2017). À queda da progesterona sanguínea pré-parto, a Ig G é liberada para o lúmen dos alvéolos mamários e secretada no colostro (HURLEY; THEIL, 2011), no qual as concentrações de Ig G são até 4 vezes maiores do que na corrente sanguínea materna. Contudo, a concentração de Ig G diminui rapidamente após o parto, chegando à metade em 24 horas, o que é explicado pela translocação do receptor *FcRn*, permitindo que a Ig G seja recapturada dos tecidos mamários

para retornar à corrente sanguínea da mãe (CHASTANT-MAILLARD *et al.*, 2017).

## 2.2. IMUNOGLOBULINAS E PROTEÍNAS COLOSTRAIS

As imunoglobulinas ou anticorpos apresentam estrutura em formato de Y, e são formadas por três segmentos, compostos pelos pares de cadeias polipeptídicas pesadas e leves (Figura 1). São divididas em 5 classes: Ig G, Ig A, Ig M, Ig D e Ig E, as quais são definidas pela estrutura da cadeia pesada, determinando distintas funções (MURPHY; TRAVERS; WALPORT, 2010).

**Figura 1:** Representação da molécula de imunoglobulina, contendo as cadeias pesadas e leves, unidas entre si pelas ligações dissulfídicas. Adaptado de Murphy, Travers e Walport, 2010.



O colostro canino possui três classes principais de imunoglobulinas: Ig A, Ig M e Ig G. A Ig A representa 16 a 40% do total de imunoglobulinas no início da lactação, tornando-se a principal classe de imunoglobulina posteriormente, chegando a 90% das imunoglobulinas presentes no leite (CHASTANT-MAILLARD, 2017; CHASTANT; MILA, 2019). Contrastando com a Ig G, as imunoglobulinas A e M são produzidas localmente no tecido mamário (CHASTANT-MAILLARD *et al.*, 2017).

A Ig A tem ação necessária nos mecanismos de defesa local do epitélio intestinal dos neonatos e, após absorção, atua em mucosas, como o trato respiratório. No intestino dos filhotes, ligam-se às bactérias e outras moléculas e micro-organismos, de modo a evitar que sejam absorvidos pelas células intestinais e causem respostas sistêmicas (HURLEY; THEIL, 2011). A Ig M é a

classe inicial de imunoglobulinas quando o organismo é exposto pela primeira vez a um antígeno, entretanto, possui baixa especificidade, resultando em menor ação contra agentes infecciosos. Tanto a Ig M como Ig A fazem aglutinação e neutralização de micro-organismos e vírus, entre outras atividades imunológicas (HURLEY; THEIL, 2011). As imunoglobulinas G são proteínas grandes, sendo compostas por duas cadeias polipeptídicas diferentes: cadeia pesada, de aproximadamente 50 kDa, e cadeia leve, de 25 kDa. Cada Ig G é formada por duas cadeias pesadas e duas leves, totalizando, aproximadamente, 150 kDa de peso molecular. As cadeias são conectadas entre si por ligações dissulfídicas (duas cadeias pesadas ligadas umas às outras e cada cadeia pesada ligada a uma leve) (MURPHY; TRAVERS; WALPORT, 2010).

A Ig G está presente em maior concentração no colostro canino, oriunda majoritariamente da corrente sanguínea materna, sendo apenas uma pequena porção produzida pelo tecido mamário (CHASTANT; MILA, 2019). Durante a gestação, os receptores *FcRn* desenvolvem-se nas células epiteliais dos alvéolos mamários e capturam a Ig G da corrente sanguínea materna (MILA *et al.*, 2015). Em 2015, Mila e colaboradores concluíram que a concentração de Ig G no colostro de cadelas é 2,8 vezes superior ao soro sanguíneo.

Adkins, Lepine e Lönnerdal (2001) identificaram os principais componentes proteicos do soro lácteo canino, por meio dos respectivos pesos moleculares, sendo:  $\alpha$ -lactoalbumina (14 kDa), lisozima (15kDa),  $\beta$ -lactoglobulina e variantes (20 a 22 kDa), albumina sérica (68 kDa) e subunidades de Ig A (15, 30, 55 e 75 kDa).

A albumina é a principal proteína globular presente no soro sanguíneo, sendo sintetizada pelo fígado e presente no soro lácteo. Suas principais funções envolvem o transporte, metabolismo e distribuição de hormônios, bilirrubinas, entre outras moléculas, além de auxiliar na pressão osmótica e controle do pH sanguíneo. Seu peso molecular é de aproximadamente 66 kDa, e sua estrutura sequencial é muito semelhante entre várias espécies (FARRELL *et al.*, 2004; CARTER; HO, 1994). Em bovinos, a albumina encontrada no leite desempenha a mesma função imunológica que a albumina sérica (FARRELL *et al.*, 2004).

A  $\beta$ -lactoglobulina, pouco pesquisada no leite de carnívoros, é a principal proteína do soro lácteo dos ruminantes (PENA *et al.*, 1999). Sua função fisiológica é incerta, mas há evidências de que esteja envolvida no transporte de retinol e ácidos graxos no leite. É sugerido que a  $\beta$ -lactoglobulina atue na ligação do retinol no processo de hidrólise da gordura do leite no intestino dos animais lactentes, assim protegendo o retinol e facilitando sua absorção (PERVAIZ; BREW, 1986). No leite de ruminantes (bovinos e caprinos), a  $\beta$ -lactoglobulina está presente principalmente como um dímero de 18 kDa. Entretanto, em outras espécies, como nos caninos e golfinhos, há duas formas monoméricas diferentes em estrutura, denominadas  $\beta$ -lactoglobulinas tipo I e tipo II (PENA *et al.*, 1999).

A  $\alpha$ -lactoalbumina e a lisozima são homólogas na sequência de aminoácidos e nucleotídeos e acredita-se que ambas sejam derivadas de um mesmo ancestral genético (HALLIDAY; BELL; SHAW, 1993). No leite bovino, as funções da  $\alpha$ -lactoalbumina relacionam-se à regulação da lactose sintase, enzima que catalisa a biossíntese da lactose na glândula mamária. A  $\alpha$ -lactoalbumina foi encontrada no leite de mamíferos que produzem lactose e no leite de marsupiais, mas não foi encontrada nas espécies aquáticas que produzem pouco ou nada de lactose, indicando sua necessidade na biossíntese da lactose (PERVAIZ; BREW, 1986).

Após a ingestão pelos neonatos, as proteínas lácteas passam por processo de digestão intestinal. Enquanto a  $\alpha$ -lactoalbumina é rapidamente digerida, a  $\beta$ -lactoglobulina apresenta processo digestivo mais lento (HURLEY; THEIL, 2011). As imunoglobulinas são, em geral, mais resistentes à digestão, sendo a Ig G a proteína do soro lácteo com a mais lenta digestão. Porém, a Ig G fornece menor proporção de aminoácidos ao neonato quando comparada às outras proteínas (HURLEY; THEIL, 2011).

### 2.3. TRANSFERÊNCIA DE IMUNIDADE PASSIVA NA ESPÉCIE CANINA

A placenta canina é classificada histo-morfologicamente como endoteliocorial, composta por quatro camadas que separam a circulação materno-fetal: endotélio da vasculatura materna, córion, mesênquima fetal e



endotélio fetal (LEISER; KAUFMANN, 1994). Tais camadas resultam em barreira relativamente impenetrável para a transferência de imunoglobulinas maternas através da placenta. Entretanto, pequenas quantidades de Ig G podem atravessar a barreira placentária em regiões específicas da placenta, chamadas zona do labirinto e zona hemófaga. Stoffel, Friess e Hartmann (2000) identificaram o transporte placentário de Ig G em uma pequena quantidade de vasos maternos na zona do labirinto, ou seja, apenas 5 a 10% da quantidade necessária de Ig G é transferida via placentária. Desta forma, os neonatos caninos apresentam aproximadamente 5% da concentração sérica de Ig G de um animal adulto (DAY, 2007). Portanto, a ingestão de colostro ao nascimento é essencial para a sobrevivência da espécie.

De forma semelhante à expressão na glândula mamária, os recém-nascidos possuem receptores *FcRn* também nas células epiteliais intestinais. Portanto, as imunoglobulinas do colostro ligam-se ao *FcRn* e, após endocitose pelas células intestinais, alcançam a circulação sanguínea, exercendo a função imunológica por transferência materna para os recém-nascidos (TIZARD, 2019). Todavia, um dos fatores influenciadores da eficiência na transferência de imunidade passiva é a própria qualidade colostrálica. Assim, para garantir a imunidade passiva colostrálica, torna-se essencial certificar características mínimas do colostro, utilizando métodos acessíveis e de fácil execução. Para tanto, a análise da qualidade colostrálica por refratometria óptica, utilizada para medir a concentração de sacarose em líquidos, permite mensurar o teor de sólidos na amostra de colostro, podendo ser correlacionada à concentração de Ig G. De fato, em 2015, Mila e colaboradores atestaram a correlação entre a concentração de Ig G no colostro de cadelas com a concentração de sólidos totais mensurada por refratometria óptica.

A avaliação da transferência de imunidade passiva em neonatos caninos pode ser realizada indiretamente pela análise da atividade das enzimas hepáticas gama glutamil transferase (GGT) e fosfatase alcalina (FA). Em estudo com neonatos caninos, Center *et al.* (1991) observaram aumento de GGT e FA em 24 horas de vida nos filhotes que mamaram colostro. Porém, nos filhotes privados de colostro, não houve alteração nas concentrações de GGT e FA

demonstrando que a mensuração de tais enzimas é um marcador indireto da ingestão do colostro.

#### 2.4. PERÍODO NEONATAL CANINO

O período neonatal canino compreende as três primeiras semanas de vida, sendo considerado crítico, pois há alto risco de mortalidade, podendo atingir aproximadamente 10% dos filhotes nascidos vivos (CHASTANT; MILA, 2019). Porém, a morbimortalidade neonatal relatada pode alcançar 35% em pequenos animais, sendo decorrente de vários fatores, tais como: ocorrência de distocia, problemas genéticos e malformações, doenças maternas, baixo peso ao nascimento, além de ambiente desfavorável e presença de agentes infecciosos (MÜNNICH, 2008). Em 2014, Mila *et al.* observaram forte relação entre a falha de transferência de imunidade passiva, determinada pela baixa concentração de Ig G aos dois dias de idade e a mortalidade neonatal em cães.

No período inicial ou de adaptação à vida extrauterina, o neonato deverá modular os sistemas cardiovascular, respiratório, urinário, hepatobiliar, hematopoiético, imune e gastrointestinal. Adicionalmente, necessita de adaptação nutricional, pois deve ser ativamente capaz de obter os nutrientes através da sucção da glândula mamária. Entretanto, os filhotes caninos nascidos por cesariana eletiva denotam menor vitalidade inicial, em comparação ao parto vaginal eutócico, em função da inerente depressão respiratória farmacológica (SILVA *et al.*, 2008). Ademais, os neonatos que apresentam baixo peso esperado ao nascer são imaturos fisiologicamente, além da competição com os irmãos da ninhada, aumentando o risco de hipotermia e hipoglicemia (GILL, 2001). Os filhotes de baixo peso também apresentam maior taxa metabólica, demandando mais energia, apesar de possuírem menor estoque de glicogênio hepático, tornando-os susceptíveis à hipoglicemia (MÜNNICH; KÜCHENMEISTER, 2014).

## 2.5. INFLUÊNCIA DO TIPO DE PARTO NA LACTOGÊNESE E TRANSFERÊNCIA DE IMUNIDADE PASSIVA

Ao final da gestação, os níveis de glicocorticoides fetais aumentam, culminando, sequencialmente, na liberação de prostaglandinas, luteólise e redução na concentração circulante de progesterona materna (VERSTEGEN-ONCLIN; VERSTEGEN, 2008). Ao haver queda da concentração de progesterona no período pré-parto ou ao final de diestro, ocorre estímulo à liberação aguda da prolactina (ROMAGNOLI; LOPATE, 2012) e, portanto, remoção dos efeitos supressores da lactação, iniciando a produção de leite (VERSTEGEN-ONCLIN; VERSTEGEN, 2008).

Após o parto, há queda abrupta dos níveis circulantes de cortisol e progesterona, em função da perda dos estímulos feto-placentários. Simultaneamente, o estímulo de sucção da glândula mamária pelo recém-nascido resulta em aumento suplementar de prolactina circulante (CONCANNON *et al.*, 1978). O estímulo sensorial diretamente na glândula mamária é também responsável pela liberação de ocitocina hipotalâmica, causando contrações no mioepitélio ao redor dos ductos alveolares e, conseqüentemente, a ejeção do leite (ROMAGNOLI; LOPATE, 2012).

Considerando-se os diferentes tipos de parto, a reduzida vitalidade dos filhotes nascidos por cesariana eletiva prévia ao início da fase expulsiva do parto está associada à ausência dos estímulos estressores da passagem do feto pelo canal vaginal (SANGILD, 2003). De fato, o parto vaginal é considerado estressante tanto para a mãe quanto para os neonatos e, portanto, gera aumento das concentrações de glicocorticoides maternos, os quais atravessam a placenta em direção aos fetos. Desta maneira, fisiologicamente, os fetos e neonatos apresentam alta concentração de cortisol durante o parto e período pós-parto imediato, respectivamente (ALONGE; MELANDRI, 2019). Por outro lado, neonatos suínos nascidos por cesariana eletiva apresentam menor concentração sanguínea de cortisol (SANGILD *et al.*, 1997). Deve ser salientado, ademais, que cordeiros que apresentam menor concentração de cortisol no periparto, possuem concomitantemente menor concentração circulante de imunoglobulinas às 24h de vida, bem como fechamento precoce da barreira

intestinal (HOUGH *et al.*, 1990). Tais resultados sugerem que, para obter máxima concentração sérica de imunoglobulinas, são necessárias concentrações elevadas de cortisol antes e durante o período de absorção de macromoléculas (HOUGH *et al.*, 1990). Porém, ainda não estão claros os efeitos da cesariana eletiva sobre a capacidade de absorção intestinal de imunoglobulinas.

Em referência às características imunológicas do colostro, há evidências de que o tipo de parto influencia a concentração colostrálica de imunoglobulinas. Em mulheres submetidas à cesariana prévia ao início do parto, há maior concentração de Ig A no colostro em comparação a mulheres submetidas ao parto vaginal, embora sem influência nas concentrações de Ig G e Ig M (STRIKER; CASANOVA; NAGAO, 2004). Por outro lado, Dizdar *et al.* (2014) observaram que a concentração proteica do colostro é maior em mulheres que apresentam parto vaginal, possivelmente por aumento da atividade hormonal induzida pelo estresse e dor do parto. Em bovinos, além da influência do tipo de parto, a quantidade e qualidade de colostro sofrem variação conforme a estação do ano, paridade e duração do procedimento cirúrgico (cesariana). Vacas submetidas à cesariana com prolongado tempo operatório apresentam redução na qualidade colostrálica, possivelmente por aumento na produção de biomoléculas que influenciam a ação da ocitocina, maior concentração de cortisol e catecolaminas por estresse e dor (TUSKA *et al.*, 2021). De fato, a administração exógena de corticoides de longa ação reduziu a concentração de Ig G no colostro bovino, conseqüentemente, reduzindo o êxito da transferência de imunidade passiva colostrálica (BRANDON; HUSBAND; LASCELLES, 1975).

Nos cães, o perfil de cortisol e catecolaminas, tanto materno como neonatal, varia conforme o tipo de parto. De acordo com Abreu (2018), a concentração de cortisol em fêmeas submetidas à cesariana é maior no intraparto e pós-parto imediato e mesmo 1h após o procedimento cirúrgico, em relação a cadelas com parto vaginal eutócico. Já a concentração de noradrenalina é superior em cadelas submetidas à cesariana eletiva, em comparação ao parto vaginal, independente do momento periparto. Em suínos, o aumento dos níveis de cortisol materno, após administração de ACTH, associou-se a maior concentração sérica de Ig G nos neonatos (BATE; HACKER, 1985). Ademais, nos filhotes caninos nascidos em eutocia vaginal, há

maior concentração de cortisol circulante até 30 minutos de vida, comparando-se aos nascidos por cesariana (ABREU, 2018). Além disto, o estresse fisiológico dos filhotes nascidos por parto vaginal também foi acompanhado de maior vitalidade neonatal, maior escore de tônus muscular e irritabilidade reflexa durante a primeira hora de vida. Em neonatos suínos, Sangild *et al.* (1997) observaram correlação positiva entre a concentração circulante de cortisol ao nascimento e as concentrações de Ig G às 48h de vida. Desta maneira, o aumento das concentrações de cortisol no pré-parto tem efeito estimulador para a absorção intestinal de macromoléculas (ROOKE; BLAND, 2002), representado por estímulo à maturação intestinal nos recém-nascidos (SANGILD; FOWDEN; TRAHAIR, 2000), maior absorção de macromoléculas e aumento das concentrações circulantes de Ig G (ROOKE; BLAND, 2002). Portanto, infere-se que as situações de estresse do parto e liberação crescente de cortisol apresentam consequência bi-modal nas mães e seus filhotes, ou seja, têm influência negativa sobre a qualidade imunológica do colostro, porém estimulam maior absorção intestinal de imunoglobulinas nos neonatos.

### **3. HIPÓTESE**

As diferentes condições obstétricas (parto eutócico vaginal e cesariana eletiva a termo) influenciam distintamente a constituição do colostro e, também, a absorção intestinal de imunoglobulinas nos recém-nascidos da espécie canina. Mais especificamente, hipotetizamos que a qualidade do colostro e a capacidade absorptiva das imunoglobulinas são reduzidas nos neonatos caninos oriundos de parto cirúrgico (cesariana eletiva).

#### **4. OBJETIVOS**

Os objetivos do presente estudo foram:

- Avaliar e comparar a qualidade colostrar de fêmeas submetidas a diferentes condições obstétricas (parto vaginal eutócico ou cesariana eletiva a termo);
- Avaliar a eficiência da transferência de imunidade passiva colostrar em filhotes caninos nascidos sob distintas condições de parto.

## 5. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente projeto foi realizado no Laboratório de Inseminação Artificial, Perinatologia e Patologia da Reprodução (LIAPP) do Departamento de Reprodução Animal, na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, sob aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (protocolo CEUA Nº 224518092019) da FMVZ. As fêmeas e neonatos utilizados eram oriundos de canis e propriedades particulares, após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido pelo proprietário.

### 5.1. ANIMAIS E GRUPOS EXPERIMENTAIS

Foram selecionadas 17 fêmeas gestantes da espécie canina, de porte médio e grande, com idade entre 2 a 6 anos e clinicamente saudáveis. Como critério de inclusão, considerou-se neste estudo apenas fêmeas com protocolo vacinal adequado e atualizado, ausência de intercorrências no período pós-parto e manejo nutricional uniforme à base de alimentação comercial *super premium* em quantidade controlada, conforme o peso da gestante. O exame semiológico das glândulas mamárias foi feito em todas as fêmeas, sendo considerado como critério de exclusão a presença de nodulações, abscessos, fibroses e outras anormalidades mamárias que pudessem comprometer a lactogênese.

De acordo com a condição obstétrica, as fêmeas e seus respectivos filhotes foram alocadas em dois grupos experimentais (tabela 1). No máximo 2 filhotes de cada fêmea ( ninhada) foram selecionados de forma aleatória para compor os grupos experimentais:

- **Grupo Parto Vaginal (n=7 cadelas e n=14 neonatos):** fêmeas e filhotes para os quais o parto eutócico ocorreu por via vaginal;
- **Grupo Cesariana Eletiva (n=10 cadelas e n=20 neonatos):** fêmeas submetidas à cesariana eletiva a termo, previamente à ruptura da membrana alantoideana (ou início da fase expulsiva do parto).



**Tabela 1:** Fêmeas alocadas nos grupos experimentais, com as respectivas raças, idades e número de filhotes na ninhada. São Paulo, 2022.

<b>Grupo experimental</b>	<b>Raça</b>	<b>Idade (anos)</b>	<b>Número de filhotes na ninhada</b>
Parto vaginal	Labrador Retriever	5	7
Parto vaginal	Labrador Retriever	4	5
Parto vaginal	Staffordshire Bull Terrier	3	6
Parto vaginal	Staffordshire Bull Terrier	2,5	5
Parto vaginal	Border Collie	5	9
Parto vaginal	Labrador Retriever	3,5	10
Parto vaginal	Staffordshire Bull Terrier	2	5
Cesariana eletiva	Labrador Retriever	5	6
Cesariana eletiva	Labrador Retriever	5	7
Cesariana eletiva	Labrador Retriever	3	7
Cesariana eletiva	Labrador Retriever	2,5	7
Cesariana eletiva	Bulldog francês	2	5
Cesariana eletiva	Staffordshire Bull Terrier	2	6
Cesariana eletiva	Bulldog francês	2	6
Cesariana eletiva	American Bully	3,5	8
Cesariana eletiva	Staffordshire Bull Terrier	2,5	6
Cesariana eletiva	American Bully	3	10

As cadelas do Grupo Parto Vaginal foram acompanhadas desde o período dos pródromos do parto (a partir da queda da temperatura corpórea, entre 8 a 24 horas antes da fase expulsiva, associada às alterações de comportamento e sinais clínicos característicos) até o nascimento do último filhote. As cadelas permaneceram em ambiente calmo e intervenções obstétricas foram evitadas, sendo realizadas apenas quando necessário.

Todas as fêmeas do Grupo Cesariana Eletiva foram submetidas à cesariana eletiva a termo, quando a progesterona sérica apresentou valores iguais ou inferiores a 2 ng/mL, associado ou não a sinais de trabalho de parto (JOHNSTON; KUSTRITZ; OLSON, 2001). O seguinte protocolo anestésico foi

adotado: medicação pré-anestésica com tramadol (2 mg/kg) e acepromazina (0,02 mg/kg) por via intramuscular; indução anestésica com propofol (5 mg/kg) por via endovenosa lenta; bloqueio epidural no espaço intervertebral lombossacro com associação de morfina (0,01 mg/kg) e lidocaína (4 mg/kg); e manutenção com isoflurano na concentração de 1,0 a 1,3%. Após a anestesia, foi feita a tricotomia e antissepsia da região abdominal, o útero foi acessado por celiotomia e, após exteriorização uterina, foi realizada a histerotomia para retirada dos filhotes. A ruptura manual dos envoltórios fetais foi feita rapidamente, seguida do clampeamento do cordão umbilical. Os filhotes foram, então, submetidos aos primeiros cuidados e avaliações. Após a retirada dos filhotes, as fêmeas foram mantidas sob anestesia inalatória com isoflurano até a histero e celiorrafia. Após a recuperação anestésica das fêmeas, os filhotes foram apresentados à mãe para reconhecimento materno e garantia da ingestão do colostro. Todas as fêmeas do grupo Cesariana Eletiva foram medicadas no pós-operatório com cefalexina (30 mg/kg) a cada 12 horas por 5 dias, cloridrato de tramadol (2 mg/kg) e dipirona sódica (25 mg/kg) a cada oito horas por 3 dias.

## 5.2. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

As determinações das variáveis maternas e neonatais seguiram um padrão de repetições ao longo do tempo, em períodos previamente definidos.

### 5.2.1. Colostro

Amostras de colostro (3 mL) foram colhidas assepticamente logo após o nascimento do filhote selecionado aleatoriamente para o estudo (*Grupo Parto Vaginal*) ou após a recuperação anestésica da mãe (*Grupo Cesariana Eletiva*) e, então, às 6 h, 12 h, 24 h e 48 horas após a primeira colheita. O colostro foi colhido por meio de ordenha manual de todos os tetos igualmente, e a amostra foi imediatamente armazenada em tubos de polipropileno (Falcon) de 15 mL a -20°C para análises posteriores.

Após a primeira colheita, as demais amostras foram obtidas simultaneamente às mamadas, de modo que a ejeção do colostro fosse facilitada pela liberação endógena de ocitocina durante o estímulo da sucção dos filhotes. Caso a ejeção de leite não fosse satisfatória para a colheita de amostras e mamada do colostro, foi avaliada a necessidade de administração de ocitocina exógena.

### **5.2.2. Neonatos**

Logo após o nascimento, foi realizada massagem torácica vigorosa e aspiração dos fluidos presentes na cavidade nasal dos neonatos, a fim de reanimá-los e promover estímulo da respiração. O exame físico foi realizado simultaneamente à reanimação neonatal e, para tanto, foi usado o escore de vitalidade neonatal adaptado à espécie canina (VERONESI *et al.*, 2009), avaliando-se os seguintes parâmetros clínicos: frequência cardíaca, frequência respiratória, irritabilidade reflexa, tônus muscular e coloração das mucosas. Foi considerado critério de exclusão neonatos com baixa vitalidade após 5 minutos do nascimento e/ou baixo peso corporal (em relação ao esperado para a raça), por haver comprometimento da glicemia, temperatura corpórea e habilidade de mamar (GRUNDY, 2006).

Para a obtenção das variáveis experimentais, amostras sanguíneas (1 a 1,5 mL) foram colhidas ao nascimento (0 h) e às 6 h, 12 h, 24 h e 48 horas de vida, por punção da veia jugular com uso de seringas (3 mL) e agulhas estéreis (20x0,55mm). O sangue foi centrifugado e o soro obtido foi armazenado em tubos de polipropileno (Eppendorf) de 2 mL à -20°C para as análises posteriores.

## **5.3. ANÁLISES EXPERIMENTAIS**

### **5.3.1. Colostro**

Após descongelação a 37°C, as amostras de colostro foram submetidas à análise de concentração de sólidos totais pelo refratômetro óptico (BRIX).

Inicialmente, foi feita a calibração do aparelho com 25  $\mu\text{L}$  de água destilada. Na sequência, o prisma óptico foi seco e, então, 25  $\mu\text{L}$  de colostro foi depositado no aparelho e a porcentagem da concentração de sólidos totais avaliada a partir da numeração oferecida.

Após a avaliação pelo refratômetro óptico, as amostras de colostro foram submetidas à separação do soro lácteo pela enzima quimosina (Estrella®), na concentração de 100  $\mu\text{L}$  de quimosina para 5 mL de colostro ou leite. Após a mistura, as amostras foram homogeneizadas e permaneceram em banho-maria a 37°C por 15 minutos, a fim de otimizar a ação da enzima. Após este período, a amostra foi centrifugada a 1500 x *g* por 20 minutos para obtenção do soro lácteo e separação da gordura e fibrinas, minimizando a turbidez das amostras e eventual interferência nas análises. O soro lácteo obtido foi armazenado em tubos de polipropileno (Eppendorf) de 2 mL a -20°C para as análises posteriores de proteína total, albumina e frações proteicas.

#### 5.3.1.1. Análise da concentração de proteína total e albumina no soro lácteo

As concentrações de proteína total e albumina no soro lácteo foram determinadas no analisador bioquímico automático da marca Labtest®, modelo Labmax 240, utilizando-se kits comerciais da marca Labtest® para proteína total (Ref. Labtest Proteínas totais 99).

#### 5.3.1.2. Análise das frações proteicas do soro lácteo

As frações proteicas presentes no soro lácteo foram analisadas por meio da técnica de eletroforese em gel de poli(acrilamida) contendo dodecilsulfato de sódio (SDS-PAGE, gel de gradiente Bolt™ 4 a 12%, Bis-Tris, 1,0 mm, Mini Protein Gel, Thermo Fisher), utilizando o sistema vertical de eletroforese em gel Bis-Tris e Tampão SDS MES, conforme a técnica de Laemmli (1970) modificada.

A fim de se obter a curva padrão da concentração de proteína de peso molecular e concentrações conhecidas, a albumina sérica bovina (BSA) foi

utilizada (Bovine Serum Albumin – SDS-PAGE, Sigma-Aldrich). Diferentes soluções foram preparadas com variadas concentrações de BSA, obtendo-se a curva padrão. A concentração específica de 0,25 mg/mL de BSA foi utilizada como padrão de concentração para todas as análises.

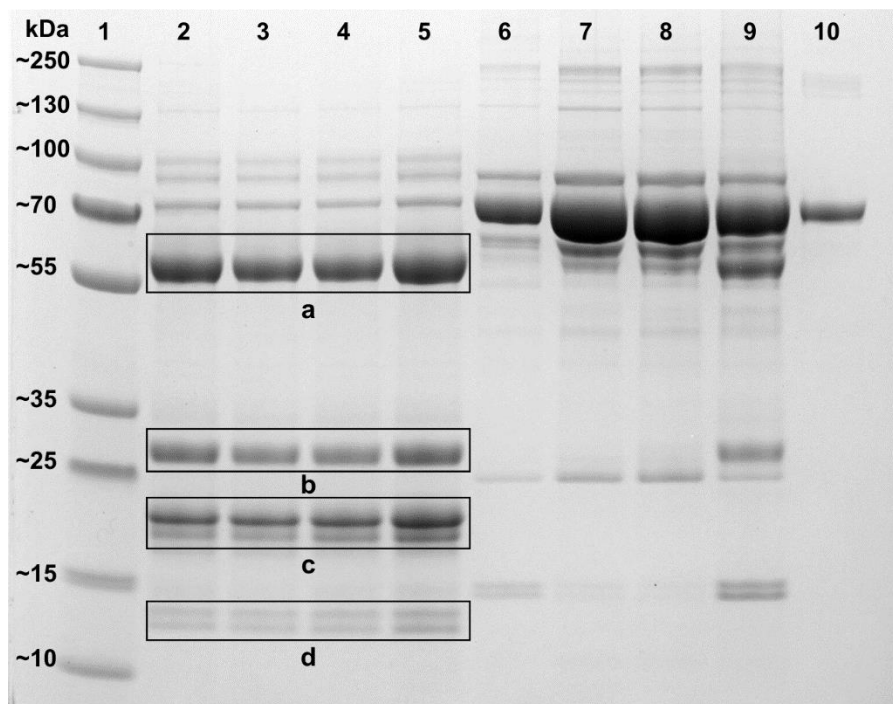
Considerando-se a concentração de proteína total em cada amostra, o soro lácteo foi diluído em 1:10 de água MilliQ® para amostras com valores acima de 5,0 g/dL. Sequencialmente, todas as amostras foram diluídas para atingir a concentração de 0,6 mg/mL. Em seguida, as amostras foram desnaturadas com a adição de 1:1 do tampão de amostra (contendo lauril sulfato de sódio e  $\beta$ -mercaptoetanol), homogeneizadas a 100°C (Termobloco digital bloco simples, modelo AccuBlock™ – Labnet®) por 10 minutos.

Em cada gel de corrida, 15  $\mu$ L da amostra, 5  $\mu$ L do padrão de peso molecular (PageRuler™ Plus Prestained Protein Ladder, 10 to 250 kDa) e o padrão de concentração de proteína (BSA, 0,25 mg/mL) foram depositados no gel. As placas contendo os géis foram depositadas na cuba Mini Gel Tank – Invitrogen®, e a solução tampão Bolt™ MES SDS Running Buffer foi adicionada em volume determinado pelo fabricante. As placas foram submetidas à corrente elétrica de 180 volts até o fim da corrida, por aproximadamente 1 hora. Após o fim da corrida, com a separação das frações proteicas, o gel foi retirado da placa e, então, realizada a coloração em solução de azul de comassie 0,2% por 10 minutos, em agitador horizontal. Logo após, o excesso de corante foi retirado e o gel colocado em solução descorante (ácido acético e metanol) em agitador horizontal, até a completa nitidez das bandas.

Para captura das fotos e imagens dos géis, foi utilizado o programa MultiDoc-It Digital Imaging System UVP, a fim de revelar as bandas proteicas de diferentes pesos moleculares. Devido ao uso do calor e presença de desnaturantes ( $\beta$ -mercaptoetanol), as pontes dissulfeto são quebradas, separando as cadeias pesadas e leves da imunoglobulina G. No presente estudo, as seguintes proteínas foram analisadas: imunoglobulina G de cadeia pesada (~55 kDa), imunoglobulina G de cadeia leve (~25 kDa),  $\beta$ -lactoglobulina (~20 a 22 kDa) e  $\alpha$ -lactoalbumina (~14 kDa) (figura 2). Para mensuração da concentração das proteínas, foi utilizado o Software Image J (National Institute

of Mental Health, Bethesda, Maryland), sendo a concentração de cada proteína determinada por comparação à BSA.

**Figura 2:** Gel de eletroforese SDS-PAGE após corrida e coloração, contendo as bandas proteicas do soro lácteo: Ig G de cadeia pesada (a), Ig G de cadeia leve (b),  $\beta$ -lactoglobulina (c) e  $\alpha$ -lactoalbumina (d). Padrão de peso molecular (1), amostras de soro lácteo (2-5), amostras de soro sanguíneo (6-9) e padrão de concentração de proteína (BSA; 10). São Paulo, 2022.



### 5.3.2. Neonatos

#### 5.3.2.1. Análises sanguíneas

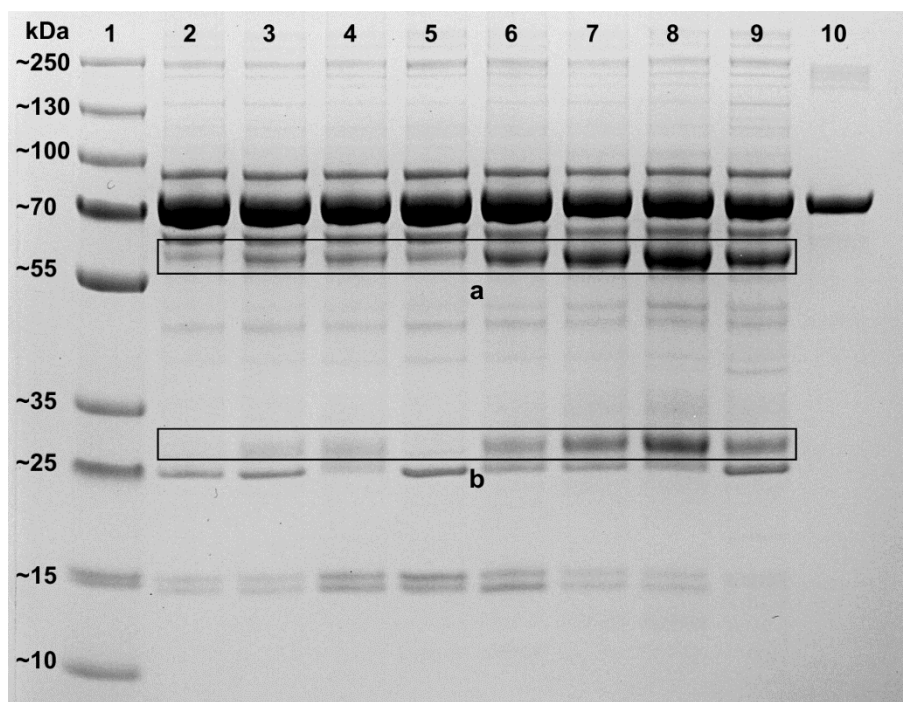
No sangue total, previamente à centrifugação, foi realizada a análise da glicemia por meio da deposição de uma alíquota de sangue diretamente no aparelho de medição Accu-Chek® Guide (Roche).

No soro sanguíneo dos neonatos, foram determinadas as concentrações de proteína total e albumina e a atividade das enzimas gama glutamil transferase (GGT) e fosfatase alcalina (FA) no analisador bioquímico automático da marca Labtest®, modelo Labmax 240, utilizando-se kits comerciais da marca Labtest® para proteína total (Ref. Labtest Proteínas totais 99) e BioSystems® para as enzimas (Ref. BioSystems GGT 11520 e FA 11593).

### 5.3.2.2. Análise da concentração de imunoglobulina G no soro sanguíneo

Para avaliar a concentração de imunoglobulina G no soro sanguíneo dos neonatos, foi realizada a técnica de eletroforese SDS-PAGE, conforme prévia descrição para o soro lácteo. As amostras de soro sanguíneo foram previamente diluídas para a concentração de 0,6 mg/mL. No presente estudo, foram analisadas a concentração das imunoglobulinas G de cadeia pesada e leve, além de outras proteínas e seus respectivos pesos moleculares (figura 3).

**Figura 3:** Gel de eletroforese SDS-PAGE após corrida e coloração, contendo as bandas proteicas do soro sanguíneo: Ig G de cadeia pesada (a) e Ig G de cadeia leve (b). Padrão de peso molecular (1), amostras de soro sanguíneo (2-9) e padrão de concentração de proteína (BSA; 10). São Paulo, 2022.



## 5.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram analisados através do programa SAS System for Windows (SAS, 2000), como medidas repetidas no tempo. Através do aplicativo Guided Data Analysis, os dados foram testados quanto a normalidade dos resíduos (distribuição normal) e homogeneidade das variâncias. Quando não

obedeceram a essas premissas, foram transformados de acordo com sugestões do aplicativo (logaritmo na base 10 -  $\text{Log}_{10}X$ ; Raiz quadrada - RQ X; Quadrado -  $X^2$ , Arco seno –  $\arcsin(X)$ ; entre outras) e quando a normalidade não foi obtida, empregou-se, então, o procedimento NPAR1WAY de análise de variância não paramétrica. Para as análises paramétricas foi utilizado o teste T de *Student* para a comparação entre os grupos e o teste *Least Significant Differences* (LSD) para comparação entre os momentos de avaliação. As variáveis de resposta foram, adicionalmente, submetidas à análise de correlação de Pearson.

Os resultados foram descritos como média  $\pm$  erro padrão. O nível de significância adotado ( $p$ ) foi de 5%, ou seja, foram consideradas diferenças estatísticas significativas quando  $p \leq 0,05$ .



## 6. RESULTADOS

### 6.1. COLOSTRO

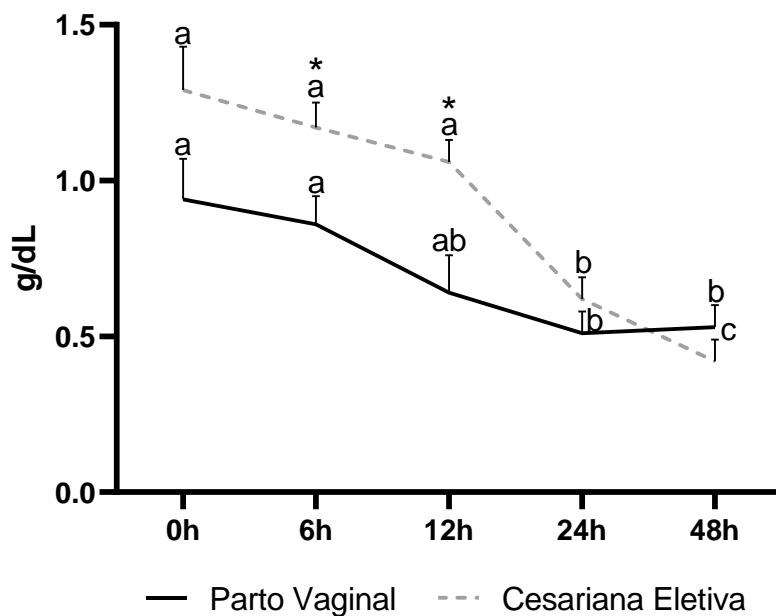
Foi observada interação significativa ( $p < 0,05$ ) entre os grupos (Parto Vaginal vs. Cesariana Eletiva) e tempos experimentais (0 h vs. 6 h vs. 12 h vs. 24 h vs. 48 horas pós-parto) apenas para a concentração de albumina (tabela 2).

**Tabela 2:** Valores de probabilidade ( $p$ ) para o efeito dos grupos (Parto Vaginal vs. Cesariana Eletiva) e tempos (0 h vs. 6 h vs. 12 h vs. 24 h vs. 48 horas pós-parto) e sua interação para as variáveis experimentais colostrais. São Paulo, 2022.

Variáveis	Grupo	Tempo	Grupo X Tempo
Concentração de sólidos totais	0,07	<0,0001	0,20
Concentração de proteína total	0,03	<0,0001	0,18
Concentração de albumina	0,03	<0,0001	<b>0,03</b>
Concentração de Ig G cadeia pesada	0,65	<0,0001	0,84
Concentração de Ig G cadeia leve	0,99	<0,0001	0,83
Concentração de $\beta$ - lactoglobulina	0,56	<0,0001	0,98
Concentração de $\alpha$ -lactoalbumina	0,75	<0,0001	0,91

Em relação à albumina colostrar, observa-se maior concentração no grupo Cesariana Eletiva às 6 h e 12 h pós-parto, em comparação ao grupo Parto Vaginal (figura 4). Ambos os grupos apresentaram queda progressiva da concentração de albumina colostrar ao longo do tempo, entretanto, no grupo Cesariana Eletiva houve redução abrupta às 24 h e 48 h pós-parto (figura 4).

**Figura 4:** Média e erro padrão da concentração de albumina (g/dL) no colostro das fêmeas do grupo Parto Vaginal e Cesariana Eletiva ao longo do período experimental. São Paulo, 2022.

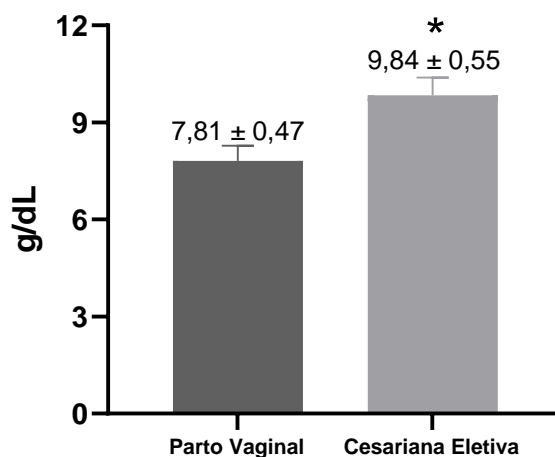


\* indica diferença estatística entre os grupos ( $p < 0,05$ );

<sup>a-c</sup> indicam diferença estatística entre os tempos ( $p < 0,05$ ).

Independente do momento de avaliação, as fêmeas submetidas à cesariana eletiva apresentaram maior ( $p=0,03$ ) concentração de proteína total no colostro, em comparação às fêmeas do grupo Parto Vaginal (figura 5).

**Figura 5:** Média e erro padrão da concentração de proteína total (g/dL) no colostro das fêmeas do grupo Parto Vaginal e Cesariana Eletiva. São Paulo, 2022.



\*indica diferença estatística entre os grupos ( $p < 0,05$ );

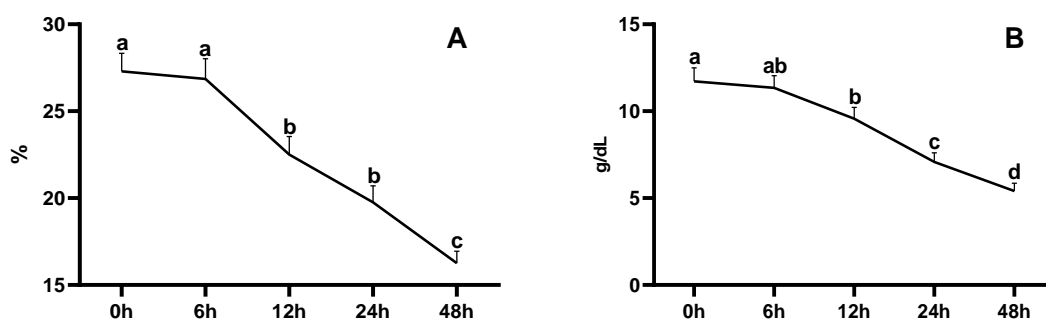
Para as demais variáveis do colostro, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos experimentais (tabela 3).

**Tabela 3:** Média e erro padrão das variáveis do colostro nos grupos Parto Vaginal e Cesariana Eletiva, com seus respectivos valores de probabilidade ( $p$ ). São Paulo, 2022.

Variáveis	Parto Vaginal	Cesariana Eletiva	$p$
Sólidos totais (%)	20,75 ± 0,83	23,51 ± 0,88	0,07
Proteína total (g/dL)	7,81 ± 0,47	9,84 ± 0,55	<b>0,03</b>
Ig G cadeia pesada (g/dL)	3,19 ± 0,31	3,5 ± 0,29	0,65
Ig G cadeia leve (g/dL)	1,35 ± 0,13	1,38 ± 0,13	0,99
$\beta$ -lactoglobulina (g/dL)	5,32 ± 0,33	5,75 ± 0,33	0,56
$\alpha$ -lactoalbumina (g/dL)	0,46 ± 0,03	0,47 ± 0,03	0,75

Todas as fêmeas apresentaram redução ( $p < 0,05$ ) nas variáveis colostrais ao longo do período experimental, independente do grupo experimental. Para a concentração de sólidos totais (figura 6A) e proteína total (figura 6B), observa-se redução significativa ( $p < 0,05$ ) somente a partir de 12 horas após o parto.

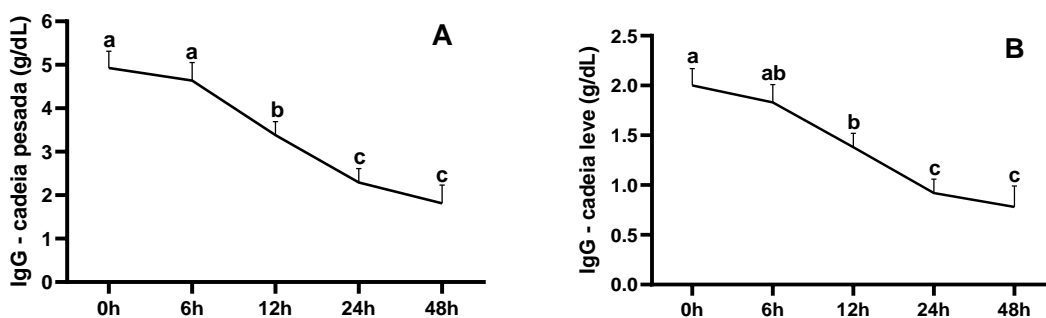
**Figura 6:** Média e erro padrão da concentração de sólidos totais (%) (A) e proteína total (g/dL) (B) no colostro das fêmeas ao longo do período experimental. São Paulo, 2022.



<sup>a-d</sup> indicam diferença estatística entre os tempos ( $p < 0,05$ ).

Houve redução ( $p < 0,05$ ) da concentração colostrual tanto de imunoglobulina G de cadeia pesada como leve, principalmente às 12 horas, em comparação ao pós-parto imediato, e novamente às 24 horas, mantendo-se estável até 48 horas após o parto (figura 7).

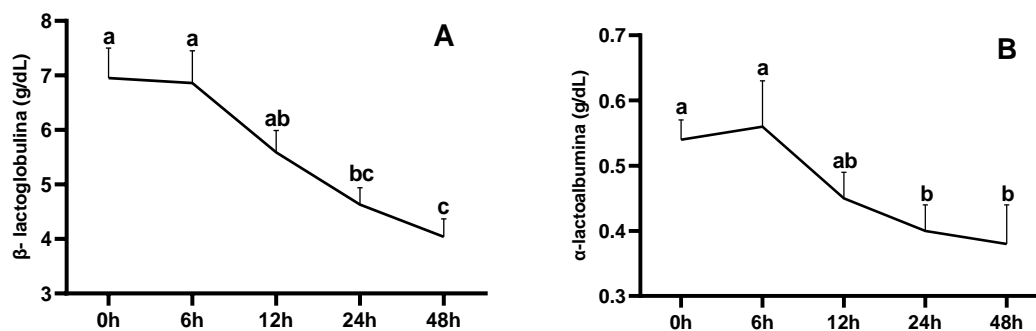
**Figura 7:** Média e erro padrão da concentração de imunoglobulina G de cadeia pesada (A) e leve (B) (g/dL) no colostro das fêmeas ao longo do período experimental. São Paulo, 2022.



<sup>a-c</sup> indicam diferença estatística entre os tempos ( $p < 0,05$ ).

Em relação à concentração de  $\beta$ -lactoglobulina e  $\alpha$ -lactoalbumina no colostro, pode-se notar queda significativa às 24 horas, em comparação ao pós-parto imediato (figura 8).

**Figura 8:** Média e erro padrão da concentração de  $\beta$ -lactoglobulina (A) e  $\alpha$ -lactoalbumina (B) (g/dL) no colostro das fêmeas ao longo do período experimental. São Paulo, 2022.



<sup>a-c</sup> indicam diferença estatística entre os tempos ( $p < 0,05$ ).

## 6.2. NEONATOS

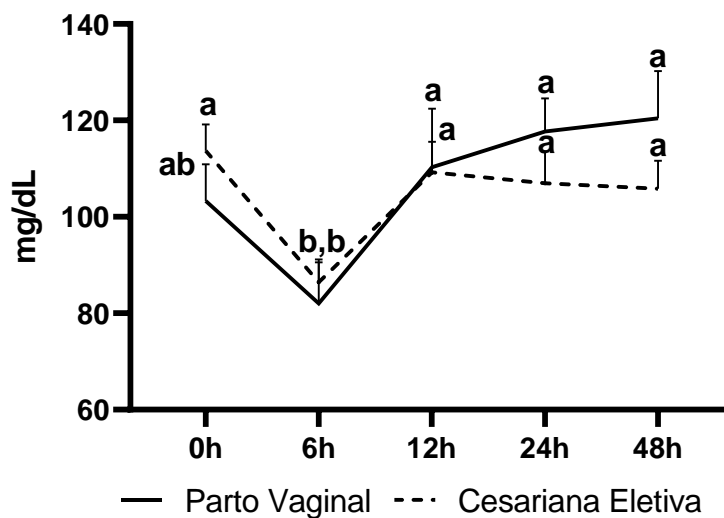
Foi observada interação significativa ( $p < 0,05$ ) entre os grupos (Parto Vaginal vs. Cesariana Eletiva) e tempos experimentais (0 h vs. 6 h vs. 12 h vs. 24 h vs. 48 horas pós-parto) para a glicemia e concentração sérica de fosfatase alcalina, além de tendência de interação ( $p = 0,06$ ) para a concentração de Ig G de cadeia pesada (tabela 4).

**Tabela 4:** Valores de probabilidade para o efeito dos grupos (Parto Vaginal vs. Cesariana Eletiva) e tempos (0 h vs. 6 h vs. 12 h vs. 24 h vs. 48 horas pós-parto) e sua interação para as variáveis experimentais neonatais. São Paulo, 2022.

Variáveis	Grupo	Tempo	Grupo X Tempo
Glicemia	0,88	<0,0001	<b>0,05</b>
Proteína total	0,02	<0,0001	0,47
Albumina	0,33	0,01	0,71
GGT	0,03	<0,0001	0,12
FA	0,0001	<0,0001	<b>0,05</b>
Ig G cadeia pesada	0,48	<0,0001	<b>0,06</b>
Ig G cadeia leve	0,41	<0,0001	0,73

Na análise da glicemia neonatal, não houve diferença significativa entre os grupos experimentais. Porém, os neonatos do grupo Cesariana Eletiva apresentaram queda significativa até 6 h de vida (figura 9). A partir de 12 h pós-parto, a glicemia permaneceu constante em ambos os grupos experimentais.

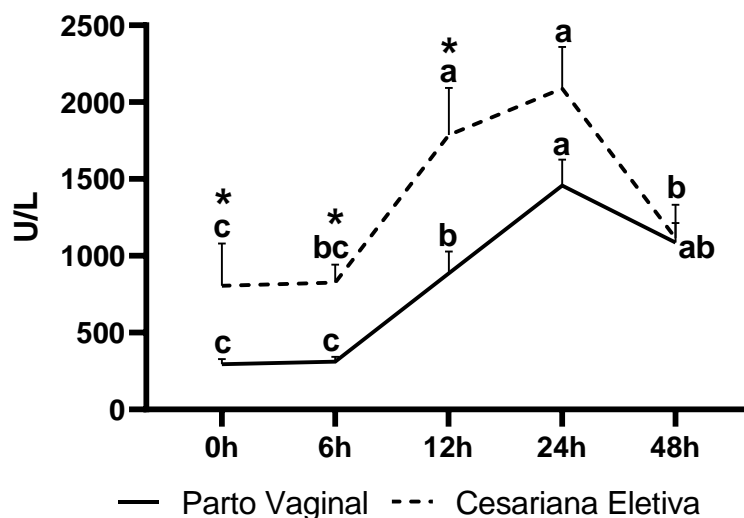
**Figura 9:** Média e erro padrão da glicemia (mg/dL) neonatal nos grupos Parto Vaginal e Cesariana Eletiva ao longo do período experimental. São Paulo, 2022.



<sup>a-c</sup> indicam diferença estatística entre os tempos ( $p \leq 0,05$ ).

A atividade da fosfatase alcalina foi superior ( $p < 0,05$ ) nos neonatos do grupo Cesariana Eletiva do nascimento às 12 horas de vida, em comparação aos neonatos do grupo Parto Vaginal (figura 10). Ao longo do tempo, houve aumento significativo às 12 horas de vida em ambos os grupos experimentais (figura 10).

**Figura 10:** Média e erro padrão da atividade neonatal da fosfatase alcalina (U/L) nos grupos Parto Vaginal e Cesariana Eletiva ao longo do período experimental. São Paulo, 2022.

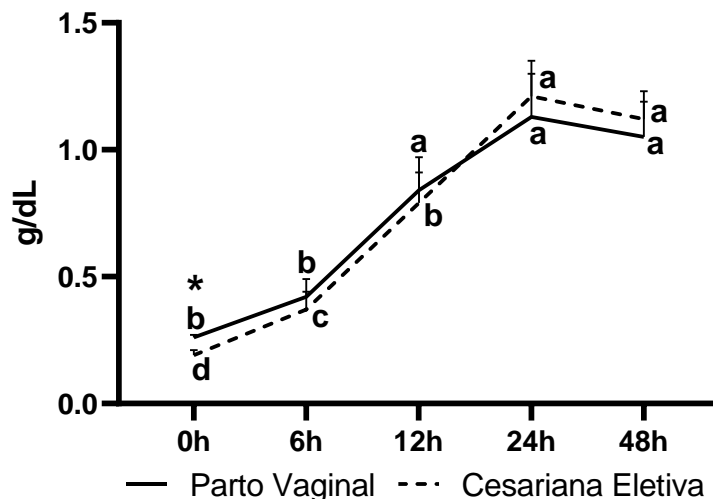


\* indica diferença estatística entre os grupos ( $p \leq 0,05$ );

<sup>a-c</sup> indicam diferença estatística entre os tempos ( $p \leq 0,05$ ).

Ao nascimento, os neonatos do grupo Parto Vaginal apresentaram maior ( $p=0,005$ ) concentração de Ig G de cadeia pesada, em comparação aos neonatos do grupo Cesariana Eletiva (figura 11). Não houve diferença estatística entre os grupos experimentais ao longo dos demais momentos de avaliação. Considerando-se o período experimental, foi possível verificar aumento progressivo da concentração de Ig G de cadeia pesada ao longo das primeiras 24 horas de vida nos neonatos oriundos de parto cirúrgico (figura 11). Por outro lado, a concentração de Ig G aumentou significativamente apenas às 12 horas de vida no grupo Parto Vaginal (figura 11).

**Figura 11:** Média e erro padrão da concentração de imunoglobulina G de cadeia pesada (g/dL) nos neonatos dos grupos Parto Vaginal e Cesariana Eletiva ao longo do período experimental. São Paulo, 2022.



\* indica diferença estatística entre os grupos ( $p=0,005$ );

<sup>a-d</sup> indicam diferença estatística entre os tempos ( $p\leq 0,06$ ).

Independente do momento de avaliação, os neonatos do grupo Cesariana Eletiva apresentaram maior ( $p<0,05$ ) concentração sérica de proteína total e atividade da gama glutamil transferase, comparando-se ao grupo Parto Vaginal (tabela 5).

**Tabela 5:** Média e erro padrão das concentrações séricas de proteína total, albumina, atividade de gama glutamil transferase e Ig G de cadeia leve nos neonatos dos grupos Parto Vaginal e Cesariana Eletiva, com seus respectivos valores de probabilidade ( $p$ ). São Paulo, 2022.

Variáveis	Parto Vaginal	Cesariana Eletiva	$p$
Proteína total (g/dL)	4,16 ± 0,09	4,58 ± 0,09*	<b>0,02</b>
Albumina (g/dL)	2,48 ± 0,06	2,6 ± 0,04	0,32
Gama glutamil transferase (GGT) (U/L)	295,82 ± 45,42	416,64 ± 65*	<b>0,03</b>
Ig G cadeia leve (g/dL)	0,33 ± 0,04	0,26 ± 0,03	0,40

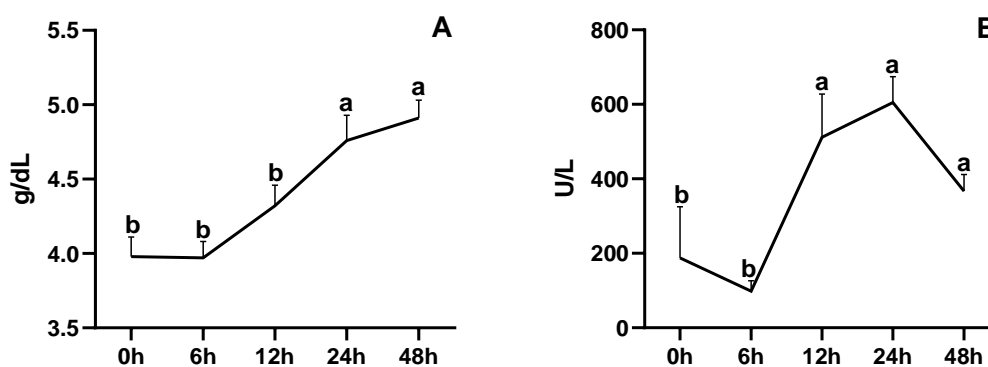
\* indica diferença estatística entre os grupos ( $p<0,05$ ).

À análise temporal, todas as variáveis neonatais aumentaram significativamente ( $p<0,01$ ), independente do grupo experimental. Em relação à



concentração sérica de proteína total, houve aumento ( $p<0,01$ ) às 24 horas de vida, mantendo-se constante até 48 horas (figura 12A). Já a atividade sérica da gama glutamil transferase elevou-se ( $p<0,01$ ) a partir de 12 horas de vida (figura 12B).

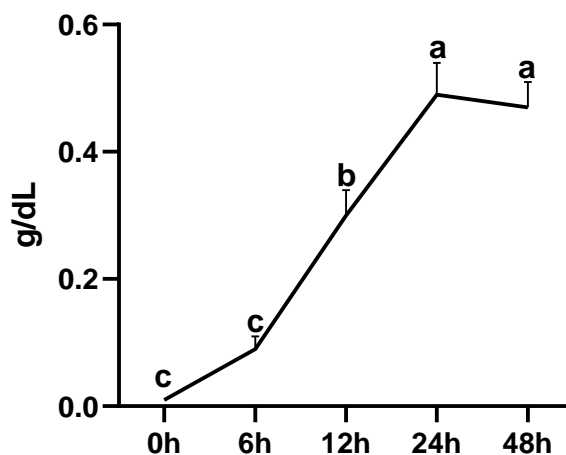
**Figura 12:** Média e erro padrão da concentração sérica de (A) proteína total (g/dL) e (B) gama glutamil transferase (U/L) dos neonatos ao longo do período experimental. São Paulo, 2022.



<sup>a-b</sup> indicam diferença estatística entre os tempos ( $p<0,05$ ).

Às 12 horas de vida, os neonatos apresentaram aumento significativo ( $p<0,01$ ) da concentração de Ig G de cadeia leve, seguido de novo incremento ( $p<0,01$ ) às 24 horas, mantendo-se constante até 48 horas de vida (figura 13).

**Figura 13:** Média e erro padrão da concentração de imunoglobulina G de cadeia leve (g/dL) nos neonatos ao longo do período experimental. São Paulo, 2022.



<sup>a-b</sup> indicam diferença estatística entre os tempos ( $p < 0,05$ ).

### 6.3. ANÁLISES DE CORRELAÇÃO ENTRE AS VARIÁVEIS EXPERIMENTAIS

Foi observada correlação positiva e significativa ( $p < 0,01$ ) entre todas as variáveis colostrais (tabelas 6 e 7 – Apêndice 1). No grupo Parto Vaginal, a concentração de sólidos totais no colostro apresentou correlação positiva com a concentração de proteína total ( $r=0,93$ ,  $p < 0,0001$ ), concentração de Ig G de cadeia pesada ( $r=0,88$ ,  $p < 0,0001$ ) e Ig G de cadeia leve ( $r=0,86$ ,  $p < 0,0001$ ) no soro lácteo. Em relação à  $\beta$ -lactoglobulina, foi possível observar correlação positiva e significativa ( $p < 0,0001$ ) com a concentração colostrais de proteína total ( $r=0,85$ ), Ig G de cadeia pesada e cadeia leve ( $r=0,79$ ) e  $\alpha$ -lactoalbumina ( $r=0,72$ ). A concentração de albumina no colostro apresentou correlação positiva com Ig G de cadeia pesada e leve ( $r=0,85$ ,  $p < 0,0001$ ). A concentração de  $\alpha$ -lactoalbumina no colostro correlacionou-se positivamente com as concentrações de proteína total ( $r=0,61$ ;  $p=0,0003$ ) e Ig G de cadeia pesada e leve ( $r=0,61$  e  $r=0,62$ , respectivamente;  $p \leq 0,0003$ ). No grupo Cesariana Eletiva, a concentração de sólidos totais no colostro apresentou correlação positiva com as concentrações de Ig G de cadeia pesada e leve ( $r=0,64$  e  $r=0,57$ , respectivamente;  $p < 0,0001$ ). A concentração de  $\beta$ -lactoglobulina no colostro correlacionou-se com proteína total ( $r=0,76$ ,  $p < 0,0001$ ), Ig G de cadeia pesada

( $r=0,6$ ,  $p<0,0001$ ) e de cadeia leve ( $r=0,53$ ,  $p=0,0002$ ). Em relação à concentração de  $\alpha$ -lactoalbumina, houve correlação positiva com as concentrações de  $\beta$ -lactoglobulina ( $r=0,63$ ,  $p<0,0001$ ), proteína total ( $r=0,58$ ,  $p<0,0001$ ), Ig G de cadeia pesada ( $r=0,81$ ,  $p<0,0001$ ) e de cadeia leve ( $r=0,84$ ,  $p<0,0001$ ). A concentração de albumina no colostro correlacionou positivamente com Ig G de cadeia pesada ( $r=0,75$ ,  $p<0,0001$ ) e Ig G de cadeia leve ( $r=0,69$ ,  $p<0,0001$ ).

Os resultados das análises de correlações entre as variáveis neonatais encontram-se nas tabelas 8 e 9 (Apêndice 2). Nos neonatos do grupo Parto Vaginal foi observada correlação positiva entre a atividade das enzimas GGT e da fosfatase alcalina ( $r=0,89$ ,  $p<0,0001$ ), concentração de Ig G de cadeia pesada e cadeia leve ( $r=0,76$  e  $r=0,71$ , respectivamente;  $p<0,0001$ ). A atividade da fosfatase alcalina correlacionou-se positivamente com a concentração sérica de Ig G de cadeia pesada ( $r=0,66$ ,  $p<0,0001$ ) e cadeia leve ( $r=0,64$ ,  $p<0,0001$ ). No grupo dos neonatos nascidos por Cesariana Eletiva, houve correlação positiva entre a atividade da GGT e da fosfatase alcalina ( $r=0,85$ ,  $p<0,0001$ ) e as concentrações de Ig G de cadeia pesada e leve ( $r=0,59$  e  $r=0,55$ , respectivamente;  $p<0,0001$ ). Em relação à atividade de fosfatase alcalina, foi observada correlação positiva com as concentrações de Ig G de cadeia pesada ( $r=0,39$ ,  $p=0,0001$ ) e leve ( $r=0,37$ ,  $p=0,0003$ ).

Os resultados das análises de correlação entre as variáveis colostrais e neonatais encontram-se nas tabelas 10 e 11 (Apêndices 3 e 4, respectivamente). No grupo Parto Vaginal, foi observada correlação negativa entre a concentração colostrar de proteína total e sérica neonatal de Ig G de cadeia pesada e leve ( $r= -0,62$  e  $r= -0,68$ , respectivamente,  $p\leq 0,0003$ ). Ainda, a concentração de albumina colostrar correlacionou negativamente com a concentração sérica neonatal de Ig G de cadeia pesada e leve ( $r= -0,6$  para ambos,  $p=0,0006$ ). No grupo Cesariana Eletiva, observou-se correlação negativa entre a concentração de proteína total do colostro e a concentração sérica de Ig G de cadeia pesada e leve dos neonatos ( $r= -0,47$  e  $r= -0,5$ , respectivamente;  $p\leq 0,001$ ). Em relação à albumina colostrar, foi possível observar correlação negativa com a concentração sérica de Ig G de cadeia pesada e leve dos neonatos ( $r= -0,56$  para ambos,  $p<0,0001$ ).

## 7. DISCUSSÃO

O presente estudo apresentou como objetivo avaliar a qualidade imunológica do colostro de cadelas submetidas a distintas condições de parto (cesariana e parto eutócico vaginal), além de analisar quantitativamente a eficiência da transferência de imunidade passiva para seus filhotes.

Para as variáveis avaliadas no colostro, observamos maior concentração de albumina no grupo Cesariana Eletiva às 6h e 12 horas pós-parto. Ademais, apesar da diminuição da concentração de albumina colostrual ao longo das primeiras 48 horas após o parto, durante a janela imunológica ideal para os neonatos caninos (absorção das imunoglobulinas pelos enterócitos até 12 horas de vida), a concentração de albumina no colostro permaneceu mais elevada no grupo Cesariana Eletiva. Embora tal resultado seja satisfatório do ponto de vista da qualidade colostrual, em bovinos, observou-se que a maior concentração de albumina no colostro prejudica a absorção neonatal de imunoglobulinas, sugerindo que o transporte de macromoléculas e a capacidade de absorção intestinal torna-se restrita nos bezerros que recebem colostro com alto conteúdo de albumina (BESSER; OSBORN, 1993).

Em nosso estudo, houve correlação negativa entre o teor de albumina colostrual e as concentrações de imunoglobulinas G de cadeia pesada e leve nos neonatos de ambos os grupos experimentais. Porém, cabe analisar tal resultado com reservas, pois entendemos que o decréscimo na concentração de albumina no colostro ocorre à medida que há absorção intestinal de proteínas pelos neonatos e, portanto, aumento da concentração proteica circulante. Desta maneira, diferente dos bovinos, a alta concentração de albumina no colostro de cadelas não denota efeito prejudicial à absorção intestinal de outras macromoléculas. Cabe ressaltar, ademais, que evidenciamos correlação positiva entre a concentração colostrual de albumina e de Ig G de cadeia pesada e leve, tanto nas fêmeas submetidas à cesariana, como parto vaginal. Mesmo considerando que ambas as proteínas (imunoglobulinas e albumina) são produzidas e transportadas por diferentes vias, tal correlação não é esperada. No colostro bovino, a despeito de imunoglobulinas e albumina serem ambas

afetadas pela permeabilidade da barreira sangue-leite, a correlação entre tais proteínas na constituição do colostro é baixa (COSTA *et al.*, 2021).

Embora não tenhamos observado diferenças significativas entre as condições de parto (vaginal vs. cesariana) das principais proteínas constituintes do colostro canino (Ig G de cadeia pesada e leve,  $\beta$ -lactoglobulina e  $\alpha$ -lactoalbumina), a concentração de proteína total é superior no colostro de cadelas submetidas ao parto cirúrgico. Desta maneira, podemos inferir que tal diferença possa ser atribuída à maior concentração de albumina no pós-parto inicial (até 12 h) no grupo Cesariana Eletiva. De qualquer forma, outras proteínas não analisadas neste estudo também podem ser diferencialmente sintetizadas e transportadas para o colostro de cadelas submetidas à cesariana eletiva. De fato, o colostro de mulheres que passaram por parto cirúrgico apresentou maior concentração de Ig A quando comparado às mães com parto vaginal, sugerindo que o estresse do parto, associado ao estresse cirúrgico, contribui para o aumento de Ig A colostrado (STRIKER; CASANOVA; NAGAO, 2004). No nosso estudo, embora nenhuma fêmea do grupo Cesariana Eletiva estivesse em fase expulsiva do parto, o componente de estresse diante do preparo ao procedimento e o transoperatório representam intervenções estressoras, à semelhança do observado em mulheres. Da mesma maneira, Tuska *et al.* (2021) observaram efeito negativo do tempo cirúrgico da cesariana em bovinos sobre a qualidade colostrado, mensurada por estimativa da concentração aproximada e indireta de Ig G.

A avaliação indireta da qualidade colostrado em cadelas, por meio da porcentagem de sólidos totais em refratômetro óptico de Brix, mostrou-se preditora da qualidade imunológica do colostro, especialmente no grupo Parto Vaginal, visto que houve correlação positiva com a concentração de Ig G de cadeias pesada e leve. Por outro lado, Mila *et al.* (2015) observaram correlação moderada ( $r=0,53$ ) entre a concentração de sólidos totais e de Ig G, à semelhança dos resultados evidenciados no presente estudo para o grupo Cesariana Eletiva ( $r=0,64$  e  $r=0,57$ , respectivamente). Isso demonstra a influência de outras proteínas no colostro de cadelas submetidas ao parto cirúrgico, salientando-se a necessidade de estudos futuros sobre outras

imunoglobulinas e proteínas constituintes do colostro canino em distintas condições de parto.

Neste experimento, a concentração de todas as variáveis mensuradas no colostro (proteína total, albumina, porcentagem de sólidos totais, imunoglobulina G,  $\beta$ -lactoglobulina e  $\alpha$ -lactoalbumina) apresentou redução ao longo do período experimental. Contrariamente às pesquisas anteriores, as quais demonstram que a concentração de proteína total no colostro de cadelas alcança valores de 10 g/dL nos primeiros 7 dias de lactação (ADKINS; LEPINE; LÖNNERDAL, 2001), a concentração de proteína total colostrada em nosso estudo sofreu queda às 24 horas pós-parto (atingindo  $7,07 \pm 0,53$  g/dL) e 48 horas pós-parto ( $5,40 \pm 0,45$  g/dL). Contudo, é importante ressaltar haver diferenças nas metodologias de análise da concentração de proteína total no colostro entre os referidos estudos.

Assim como a redução da concentração de proteína total, o decréscimo na concentração de Ig G no colostro das cadelas a partir de 12 h após o parto exprime a transformação de colostro em leite de transição. De acordo com Schäfer-Somi, Bär-Schadler e Aurich (2005), há queda de Ig A e Ig M no colostro de cadelas já às 24 horas pós-parto e de Ig G a partir de 72 horas até seis semanas pós-parto. O decréscimo na concentração de imunoglobulinas no colostro, em especial a Ig G, decorre da mudança de expressão do receptor *FcRn* na glândula mamária, o qual recaptura grande parte da Ig G a ser secretada no colostro e devolve à corrente sanguínea materna (CHASTANT-MAILLARD *et al.*, 2017). De acordo com Chastant e Mila (2019), a concentração de imunoglobulina adequada para transferência de imunidade passiva colostrada é superior a 0,34 g/dL. No presente estudo, as concentrações de Ig G foram superiores ao referenciado, o que pode ser atribuído às diferentes técnicas de análise. Porém, avaliando o perfil de Ig G no colostro de cadelas neste estudo, atesta-se a máxima qualidade colostrada até o momento de 12 horas pós-parto, a partir do qual a qualidade colostrada diminui gradativamente. Considerando, ademais, o tempo de fechamento da barreira intestinal dos neonatos, é imprescindível que a colostragem ocorra nas primeiras 12 a 24 horas após o parto, bem como o armazenamento para constituição de banco de colostro canino.

A transformação de colostro em leite de transição também pode ser atestada pela redução nas concentrações de  $\beta$ -lactoglobulina e  $\alpha$ -lactoalbumina no soro lácteo ao longo das horas após o parto. De acordo com Indyk *et al.* (2017), as concentrações de  $\beta$ -lactoglobulina e suas variantes decrescem na formação do leite de transição e leite maduro em bovinos, reduzindo-se à metade nos primeiros três dias pós-parto. No presente estudo, houve correlação positiva entre a concentração colostrar de  $\beta$ -lactoglobulina e a concentração colostrar de proteína total e Ig G, mostrando que o colostro canino também passa por redução de outras proteínas ao se transformar em leite. Em relação à função da  $\beta$ -lactoglobulina no colostro de cadelas, pouco é conhecido, mas há evidências de sua participação moduladora na absorção intestinal de vitamina A (PERVAIZ; BREW, 1986; SAWYER, 2013). Portanto, considerando tais achados, podemos inferir que as primeiras horas de vida estão relacionadas também à absorção prioritária de vitaminas, em especial do retinol.

A ação da  $\alpha$ -lactoalbumina como constituinte de colostro e leite está relacionada à biossíntese da lactose. Desta maneira, sugere-se que a redução da concentração de  $\alpha$ -lactoalbumina no leite canino pode resultar em menor concentração de lactose. Entretanto, Adkins, Lepine e Lönnerdal (2001) observaram que a concentração de lactose no colostro canino é menor do que no leite, correlacionando-se negativamente com a concentração de proteínas ao longo da lactação. Por outro lado, no presente estudo, a concentração de  $\alpha$ -lactoalbumina no colostro de cadelas correlacionou positivamente com a concentração colostrar de proteína total, Ig G e  $\beta$ -lactoglobulina até 48 horas pós-parto. Portanto, pode-se supor que eventuais relações entre a concentração de  $\alpha$ -lactoalbumina e outras proteínas ocorram após o período de transição de colostro para leite, quando há oscilação na taxa de lactose na secreção mamária.

Para a análise dos neonatos, verificamos normoglicemia (52 – 127 mg/dL, MÜNNICH; KÜCHENMEISTER, 2014) durante todo o período de avaliação em ambos os grupos experimentais. Entretanto, os neonatos do grupo Cesariana Eletiva apresentaram redução significativa da glicemia às 6 horas de vida, não observada no grupo Parto Vaginal. Tal distinção deve-se ao maior consumo dos estoques de glicogênio hepático após o nascimento por parto cirúrgico, para o cumprimento da homeostase térmica e energética dos neonatos frente à

cesariana. Apesar do perfil glicêmico distinto, não foi observada diferença significativa da glicemia entre os grupos experimentais ao longo das avaliações, denotando que a manutenção energética não está sob influência da condição de parto.

Os neonatos do grupo Cesariana Eletiva apresentaram maior atividade da fosfatase alcalina às 6 h e 12 horas de vida, bem como da gama glutamil transferase, independente do momento de análise, em comparação ao grupo Parto Vaginal. Em ambos os grupos experimentais, houve correlação positiva entre as concentrações séricas de FA e GGT com os níveis sanguíneos de Ig G. Porém, à medida que evidenciamos maior conteúdo proteico no colostro das cadelas do grupo Cesariana Eletiva, acreditamos que o maior aporte favoreceu a absorção neonatal de macromoléculas do colostro (e outras proteínas não analisadas neste estudo). Além disto, infere-se que o nascimento por parto cirúrgico imprime maior permeabilidade da barreira intestinal, principalmente, até 12 horas após o nascimento, ou seja, retardando o fechamento da barreira intestinal dos filhotes. A capacidade absorptiva intestinal é influenciada pela ação de hormônios corticosteroides, uma vez que a administração de corticoides exógenos induz a maturação precoce dos enterócitos por estímulo à proliferação das células das criptas intestinais, diminuindo a capacidade de transferência de macromoléculas nas vilosidades (WESTRÖM *et al.*, 2020).

Portanto, ao se considerar que os neonatos oriundos de cesariana eletiva possuem menor concentração circulante de cortisol endógeno ao nascimento (ABREU, 2018), infere-se que ocorra prolongamento do tempo de abertura da barreira intestinal. Logo, a permeabilidade intestinal dos neonatos do grupo Cesariana Eletiva é maior e mais duradoura, em comparação aos filhotes do grupo Parto Vaginal. Outro fator a ser considerado é o momento no qual se dá a colostragem. Em bezerros, a capacidade absorptiva é mais curta quando a primocolostragem ocorre logo após o nascimento, em comparação aos bezerros privados de colostro até as 24 horas de vida (STOTT *et al.*, 1979). Desta maneira, o atraso no momento da colostragem em função do procedimento operatório e do tempo de recuperação da cadela é um fator que explica o maior período de absorção intestinal e, portanto, aumento da capacidade absorptiva dos filhotes nascidos por cesariana.



No presente estudo, não evidenciamos diferença significativa da concentração sérica de Ig G ao longo do período experimental nos neonatos oriundos de distintas condições de parto, corroborando o experimento de Sangild *et al.* (1997), os quais relatam não haver diferença nas concentrações de Ig G em neonatos suínos nascidos por via vaginal ou cesariana. Entretanto, imediatamente após o nascimento (0 h), houve maior concentração de Ig G de cadeia pesada nos neonatos do grupo Parto Vaginal, em relação ao grupo Cesariana Eletiva. Pode-se sugerir que o maior intervalo de tempo entre o início do primeiro estágio do parto (pródromos) e a expulsão fetal no parto vaginal eutócico favoreceu a transferência placentária de imunoglobulinas. Em contraste, os neonatos oriundos de cesariana eletiva apresentaram menor tempo para o nascimento a partir do início dos sinais de pródromos do parto, limitando a concentração sérica de Ig G ao nascimento. Entretanto, após o parto, os neonatos do grupo Cesariana Eletiva apresentaram aumento significativo da concentração de Ig G de cadeia pesada às 6 horas, enquanto os neonatos do grupo Parto Vaginal somente às 12 horas de vida. Tal resultado sugere novamente que a capacidade absorptiva intestinal dos neonatos oriundos de parto cirúrgico supera aqueles nascidos por parto vaginal. De forma semelhante, em suínos, atesta-se período mais prolongado da barreira intestinal pérvia, e absorção das macromoléculas em leitões nascidos por parto cirúrgico (SANGILD, 2003).

Independente dos momentos de avaliação, os neonatos do grupo Cesariana Eletiva apresentaram maior concentração sérica de proteína total. Como as fêmeas submetidas à cesariana denotaram maior conteúdo proteico no colostro, infere-se haver maior capacidade de absorção neonatal, conforme o maior aporte de proteínas no colostro. Entretanto, não houve diferença significativa da concentração sérica de Ig G entre os grupos experimentais, sugerindo que o conteúdo absorptivo pelos neonatos inclui também outras classes de proteínas não avaliadas neste estudo. Ainda, o resultado das análises de correlação entre o conteúdo do colostro e o perfil sérico dos neonatos denota efeito inversamente proporcional. Ou seja, ao passo que a concentração proteica do colostro diminui, a concentração de proteínas sanguíneas nos neonatos aumenta, evidenciando adequada absorção intestinal das proteínas colostrais.

Ao longo do período experimental, houve aumento significativo da concentração sérica de proteína total às 24 horas de vida, coincidindo com o aumento dos níveis de Ig G de cadeia leve, independente do grupo experimental. Já o aumento da concentração sanguínea da Ig G de cadeia pesada foi observado progressivamente a partir de 6 h no grupo Cesariana Eletiva e às 12 h no grupo Parto Vaginal. Tal resultado mostra que a absorção das macromoléculas ocorre nas primeiras 12 a 24 horas de vida nos neonatos caninos. De fato, Chastant-Maillard *et al.* (2012) demonstraram que a barreira intestinal canina permanece pérvia principalmente nas primeiras 12 horas de vida, havendo grande redução na capacidade absorptiva já às 4 horas de vida. Ademais, no presente estudo, a janela absorptiva de Ig G dos neonatos nascidos via cesariana é maior (até às 24 horas de vida) em comparação aos filhotes oriundos de parto vaginal, os quais alcançam estabilização às 12 horas.

Embora o presente estudo tenha contribuído para o entendimento de eventuais influenciadores da qualidade colostrar e colostrogênese na espécie canina (condição obstétrica e período após o parto), outros fatores devem ser considerados em futuros estudos, tais como a duração da fase expulsiva do parto ou tempo operatório, e níveis diferenciais de cortisol e catecolaminas maternas e fetais. Ainda, a transferência de imunidade passiva pode variar segundo o modelo de aleitamento, seja controlado ou por livre demanda, interferindo no volume de colostro ingerido nos momentos críticos para a absorção intestinal.

## 8. CONCLUSÃO

Com base nos resultados apresentados, é possível concluir que a condição obstétrica influencia a composição do colostro canino, bem como a capacidade absorptiva das proteínas colostrais pelos neonatos. Mais especificamente, concluímos que:

- O parto cirúrgico (cesariana eletiva) determina melhor qualidade proteica (albumina e proteína total) no colostro canino. A qualidade colostrar, em geral, é mantida até 12 horas pós-parto, havendo progressiva transformação para leite de transição.
- Neonatos caninos nascidos por cesariana eletiva possuem melhor capacidade absorptiva das proteínas colostrais, embora a transferência de imunidade seja satisfatória independente da condição obstétrica ao nascimento.

## 9. REFERÊNCIAS

ABREU, R. A. **Desempenho respiratório na transição feto-neonatal de cães nascidos em eutocia vaginal ou cesariana eletiva**. 2018. 98 f. Tese (Doutorado) – Departamento de Reprodução Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

ADKINS Y.; LEPINE, A. J.; LONNERDAL, B. Changes in protein and nutrient composition of milk throughout lactation in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 62, n. 8, p. 1266-1272, 2001.

ALONGE, S.; MELANDRI, M. Effect of delivery management on first-week neonatal outcome: How to improve it in Great Danes. **Theriogenology**, v. 125, p. 310-316, 2019.

BATE, L. A.; HACKER, R. R. The influence of the sow's adrenal activity on the ability of the piglet to absorb IgG from colostrum. **Canadian Journal of Animal Science**. v. 65, n.1, p. 77–85, 1985.

BESSER, T. E.; OSBORN, D. Effect of bovine serum albumin on passive transfer of immunoglobulin G1 to newborn calves. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 37, p. 321-327, 1993.

BORGHESI, J.; MARIO, L. C.; RODRIGUES, M. N.; FAVARON, P. O.; MIGLINO, M. A. Immunoglobulin transport during gestation in domestic animals and humans - A Review. **Open Journal of Animal Sciences**, v. 4, p. 323-336, 2014.

CARTER, D. C.; HO, J. X. Structure of serum albumin. **Advances in Protein Chemistry**, v. 45, p. 153–203, 1994.

BRANDON, M. R.; HUSBAND, A. J.; LASCELLES, A. K. The effect of glucocorticoid on immunoglobulin secretion into colostrum in cows. **Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science**, v. 53, n. 1, p. 43-48, 1975.

CENTER, S. A.; RANDOLPH, J. F.; MANWARREN, T.; SLATER, M. Effect of colostrum ingestion on gamma-glutamyltransferase and alkaline phosphatase activities in neonatal pups. **American Journal of Veterinary Research**, v. 52, n. 3, p. 499-504, 1991.

CHASTANT, S.; MILA, H. Passive immune transfer in puppies. **Animal Reproduction Science**, v. 207, p. 162-170, 2019.

CHASTANT-MAILLARD, S.; AGGOUNI, C.; ALBARET, A.; FOURNIER, A.; MILA, H. Canine and feline colostrum. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 52, p. 148-152, 2017.

CHASTANT-MAILLARD, S.; FREYBURGER, L.; MARCHETEAU, E.; THOUMIRE, S.; RAVIER, J. F.; REYNAUD, K.; Timing of intestinal barrier

closure in puppies. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 47, p. 190-193, 2012.

CONCANNON, P. W.; BUTLER, W. R.; HANSEL, W.; KNIGHT, P. J.; HAMILTON, J. M. Parturition and lactation in the bitch: serum progesterone, cortisol and prolactin. **Biology of Reproduction**, v. 19, p., 1113-1118, 1978.

COSTA, A.; GOI, A.; PENASA, M.; NARDINO, G.; POSENATO, L.; DE MARCHI, M. Variation of immunoglobulins G, A and M and bovine serum albumin concentration in Holstein cow colostrum. **Animal**, v. 15, n. 7, 100299, 2021.

DAY, M. J. Immune system development in the dog and cat. *Journal of Comparative Pathology*, v. 137, p. S10-S15, 2007.

DELOUIS, C. Physiology of Colostrum Production. **Annales de Recherches Vétérinaires**, v. 9, n.2, p.193-203, 1978.

DIZDAR, E. A. *et al.* Effect of mode of delivery on macronutrient content of breast milk. **The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**, v. 27, n. 11, p. 1099-1102, 2014.

FARRELL, H. M. *et al.* Nomenclature of the proteins of cows' milk – Sixth revision. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 6, p. 1641-1674, 2004.

GILL, M. A. **Perinatal and late neonatal mortality in the dog**. 2001. Tese (Doctor of Philosophy) – The University of Sydney, Sydney, 2001.

GRUNDY, S. A. Clinically relevant physiology of the neonate. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 36, p. 443-459, 2006.

HALLIDAY, J. A.; BELL, K.; SHAW, D. C. Feline and canine milk lysozymes. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 106B, n. 4, p. 859-865, 1993.

HOUGH, R. L.; MCCARTHY, F. D.; THATCHER, C. D.; KENT, H. D.; EVERSOLE, D. E. Influence of glucocorticoid on macromolecular absorption and passive immunity in neonatal lambs. **Journal of Animal Science**, v. 68, ed. 8, p. 2459-2464.

HURLEY, W. L.; THEIL, P. K. Perspectives on Immunoglobulins in Colostrum and Milk. **Nutrients**, v. 3, ed. 4, p. 442-74, 2011.

INDYK, H. E.; HART, S.; MEERKERK, T.; GILL, B. D.; WOOLLARD, D. C. The  $\beta$ -lactoglobulin content of bovine milk: Development and application of a biosensor immunoassay. **International Dairy Journal**, v. 73, p. 68-73, 2017.

JOHNSTON, S. D.; KUSTRITZ, M. V. R.; OLSON, P. N. S. **Canine and feline theriogenology**. Philadelphia: Saunders, 2001.

- LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, v. 227, p. 680-685, 1970.
- LEISER, R.; KAUFMANN, P. Placental structure: in a comparative aspect. **Experimental and Clinical Endocrinology**, v. 102, ed. 3, p. 122-134, 1994.
- MILA, H.; FEUGIER, A.; GRELLET, A.; ANNE, J.; GONNIER, M.; MARTIN, M.; ROSSIG, L.; CHASTANT-MAILLARD, S. Immunoglobulin G concentration in canine colostrum: Evaluation and variability. **Journal of Reproductive Immunology**, v. 112, p. 24-28, 2015.
- MILA, H.; FEUGIER, A.; GRELLET, A.; ANNE, J.; GONNIER, M.; MARTIN, M.; ROSSIG, L.; CHASTANT-MAILLARD, S. Inadequate passive immune transfer in puppies: definition, risk factors and prevention in a large multi-breed kennel. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 116, ed.1-2, p. 209-213, 2014.
- MÜNNICH, A.; KÜCHENMEISTER, U. Causes, diagnosis and therapy of common diseases in neonatal puppies in the first days of life: cornerstones of practical approach. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 49, p. 64-74, 2014.
- MÜNNICH, A. The pathological newborn in small animals: the neonate is not a small adult. **Veterinary Research Communications**, v. 32, n. S1, p. S81-S85, 2008.
- MURPHY, K.; TRAVERS, P.; WALPORT, M. **Imunobiologia de Janeway**. 7. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.
- PENA, R. N.; SÁNCHEZ, A.; COLL, A.; FOLCH, J. M. Isolation, sequencing and relative quantitation by fluorescent-ratio PCR of feline  $\beta$ -lactoglobulin I, II and III cDNAs. **Mammalian Genome**, v. 10, p. 560-564, 1999.
- PERVAIZ, S.; BREW, K. Purification and Characterization of the major whey proteins of the Bottlenose Dolphin (*Tursiops truncatus*), the Florida Manatee (*Trichechus manatus latirostris*), and the Beagle (*Canis familiaris*). **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 246, n. 2, p. 846-854, 1986.
- ROMAGNOLI, S.; LOPATE, C. Control of mammary gland function in the bitch and queen: a review. **Proceedings of the Society for Theriogenology Annual Conference**, Agosto, 20-25, 2012 – Baltimore, MD, EUA.
- ROOKE, J. A.; BLAND, I. M. The acquisition of passive immunity in the newborn piglet. **Livestock Production Science**, v. 78, p. 13-23, 2002.
- SANGILD, P. T. Uptake of colostral immunoglobulins by the compromised newborn farm animal. **Acta Veterinaria Scandinavica**, s. 98, p. 105-122, 2003.
- SANGILD, P. T.; FOWDEN, A. L.; TRAHAIR, J. F. How does the foetal gastrointestinal tract develop in preparation for enteral nutrition after birth. **Livestock Production Science**, v. 66, p. 141-150, 2000.

SANGILD, P. T.; HOLTUG, K.; DIERNÆS, L.; SCHMIDT, M.; SKADHAUGE, E. Birth and prematurity influence intestinal function in the newborn pig. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 118A, n. 2, p. 359-361, 1997.

SAWYER, L.  $\beta$ -lactoglobulin. *In*: MCSWEENEY, P.; FOX, P. **Advanced Dairy Chemistry**. Springer. Boston, MA, 2013. p. 211-259.

SCHÄFER-SOMI, S.; BÄR-SCHADLER, S.; AURICH, J. E. Immunoglobulins in nasal secretions of dog puppies from birth to six weeks of age. **Research in Veterinary Science**, v. 78, p. 143-150, 2005.

SILVA, L. C. G.; LÚCIO, C. F.; VEIGA, G. A. L.; RODRIGUES, J. A.; VANNUCCHI, C. I. Avaliação clínica neonatal por escore Apgar e temperatura corpórea em diferentes condições obstétricas na espécie canina. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 103, p. 165-170, 2008.

SMITH, F. O. Challenges in small animal parturition – timing elective and emergency cesarian sections. **Theriogenology**, v. 68, n. 3, p. 348-353, 2007.

STOFFEL, M. H.; FRIESS, A. E.; HARTMANN, S. H. Ultrastructural evidence of transplacental transport of immunoglobulin G in bitches. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 118, p. 315-326, 2000.

STOTT, G. H.; MARX, D. B.; MENEFEE, B. E.; NIGHTENGALE, G. T. Colostral immunoglobulin transfer in calves. I. Period of absorption. **Journal of Dairy Science**, v. 62, ed. 10, p. 1632-1638, 1979.

STRIKER, G. A. J.; CASANOVA, L. D.; NAGAO, A. T. Influência do tipo de parto sobre a concentração de imunoglobulinas A, G e M no colostro materno. **Jornal de Pediatria**, v. 80, n. 2, p. 123-128, 2004.

TIZARD, I. R. **Imunologia Veterinária**, 10. ed., Rio de Janeiro: Elsevier, 2019.

TUSKA, H. S. A. *et al.* The impact of elective caesarean section on colostrum characteristics in double-musced Belgian Blue cows. **Theriogenology**, v. 167, p. 120-125, 2021.

VERONESI, M. C.; PANZANI, S.; FAUSTINI, M.; ROTA, A. Na Apgar scoring system for routine assessment of newborn puppy viability and short-term survival prognosis. **Theriogenology**, v. 72, p. 401-407, 2009.

VERSTEGEN-ONCLIN, K.; VERSTEGEN, J. Endocrinology of pregnancy in the dog: A review. **Theriogenology**, v. 70, ed. 3, p. 291-299, 2008.

WESTRÖM, B.; SUREDA, E. A.; PIERZYNOWSKA, K.; PIERZYNOWSKI, S. G.; PÉREZ-CANO, F. The immature gut barrier and its importance in establishing immunity in newborn mammals. **Frontiers in Immunology**, v. 11, 1153, 2020.

## 10. APÊNDICES

### 10.1. APÊNDICE 1

**Tabela 6:** Análises de correlação das variáveis do colostro do grupo Parto Vaginal. São Paulo, 2022.

	Sólidos totais	Albumina	Proteína total	Ig G cadeia pesada	Ig G cadeia leve	$\beta$ -lactoglobulina	$\alpha$ -lactoalbumina
Sólidos totais	-	0,7977 <0,0001	0,9304 <0,0001	0,87791 <0,0001	0,86463 <0,0001	0,75158 <0,0001	0,45736 0,01
Albumina	0,7977 <0,0001	-	0,86702 <0,0001	0,85059 <0,0001	0,85052 <0,0001	0,86823 <0,0001	0,76685 <0,0001
Proteína total	0,9304 <0,0001	0,86702 <0,0001	-	0,94043 <0,0001	0,93479 <0,0001	0,85425 <0,0001	0,61154 <0,0001
Ig G cadeia pesada	0,87791 <0,0001	0,85059 <0,0001	0,94043 <0,0001	-	0,99476 <0,0001	0,78661 <0,0001	0,6065 0,0004
Ig G cadeia leve	0,86463 <0,0001	0,85052 <0,0001	0,93479 <0,0001	0,99476 <0,0001	-	0,78745 <0,0001	0,61572 0,0003
$\beta$ -lactoglobulina	0,75158 <0,0001	0,86823 <0,0001	0,85425 <0,0001	0,78661 <0,0001	0,78745 <0,0001	-	0,71997 <0,0001
$\alpha$ -lactoalbumina	0,45736 0,01	0,76685 <0,0001	0,61154 <0,0001	0,6065 0,0004	0,61572 0,0003	0,71997 <0,0001	-

**Tabela 7:** Análises de correlação das variáveis do colostro do grupo Cesariana Eletiva. São Paulo, 2022.

	Sólidos totais	Albumina	Proteína total	Ig G cadeia pesada	Ig G cadeia leve	$\beta$ -lactoglobulina	$\alpha$ -lactoalbumina
Sólidos totais	-	0,85016 <0,0001	0,93393 <0,0001	0,6433 <0,0001	0,56591 <0,0001	0,75799 <0,0001	0,54883 0,0001
Albumina	0,85016 <0,0001	-	0,87136 <0,0001	0,74532 <0,0001	0,69143 <0,0001	0,71887 <0,0001	0,57844 <0,0001
Proteína total	0,93393 <0,0001	0,87136 <0,0001	-	0,70278 <0,0001	0,62236 <0,0001	0,76464 <0,0001	0,58427 <0,0001
Ig G cadeia pesada	0,6433 <0,0001	0,74532 <0,0001	0,70278 <0,0001	-	0,98309 <0,0001	0,5956 <0,0001	0,81147 <0,0001
Ig G cadeia leve	0,56591 <0,0001	0,69143 <0,0001	0,62236 <0,0001	0,98309 <0,0001	-	0,53188 0,0002	0,83618 <0,0001
$\beta$ -lactoglobulina	0,75799 <0,0001	0,71887 <0,0001	0,76464 <0,0001	0,5956 <0,0001	0,53188 0,0002	-	0,62551 <0,0001
$\alpha$ -lactoalbumina	0,54883 0,0001	0,57844 <0,0001	0,58427 <0,0001	0,81147 <0,0001	0,83618 <0,0001	0,62551 <0,0001	-



## 10.2. APÊNDICE 2

**Tabela 8:** Análises de correlação das variáveis dos neonatos do grupo Parto Vaginal. São Paulo, 2022.

	Glicemia	Proteína total	Albumina	Gama glutamyl transferase	Fosfatase alcalina	Ig G cadeia pesada	Ig G cadeia leve
Glicemia	-	0,23207 0,077	-0,10323 0,4366	0,20901 0,1154	0,22852 0,0845	0,54065 <0,0001	0,52023 <0,0001
Proteína total	0,23207 0,077	-	0,38315 0,0027	0,75309 <0,0001	0,72687 <0,0001	0,6886 <0,0001	0,62376 <0,0001
Albumina	-0,10323 0,4366	0,38315 0,0027	-	0,21732 0,1013	0,33278 0,0107	0,10966 0,4083	0,11576 0,3826
Gama glutamyl transferase	0,20901 0,1154	0,75309 <0,0001	0,21732 0,1013	-	0,88524 <0,0001	0,75523 <0,0001	0,7122 <0,0001
Fosfatase alcalina	0,22852 0,0845	0,72687 <0,0001	0,33278 0,0107	0,88524 <0,0001	-	0,65971 <0,0001	0,63914 <0,0001
Ig G cadeia pesada	0,54065 <0,0001	0,6886 <0,0001	0,10966 0,4083	0,75523 <0,0001	0,65971 <0,0001	-	0,95079 <0,0001
Ig G cadeia leve	0,52023 <0,0001	0,62376 <0,0001	0,11576 0,3826	0,7122 <0,0001	0,63914 <0,0001	0,95079 <0,0001	-

**Tabela 9:** Análises de correlação das variáveis dos neonatos do grupo Cesariana Eletiva. São Paulo, 2022.

	Glicemia	Proteína total	Albumina	Gama glutamyl transferase	Fosfatase alcalina	Ig G cadeia pesada	Ig G cadeia leve
Glicemia	-	0,24961 0,0158	0,28756 0,0052	0,14243 0,1732	0,14543 0,1643	0,04512 0,6693	-0,00897 0,9324
Proteína total	0,24961 0,0158	-	0,38077 0,0002	0,63497 <0,0001	0,51611 <0,0001	0,49325 <0,0001	0,46875 <0,0001
Albumina	0,28756 0,0052	0,38077 0,0002	-	-0,16934 0,1046	-0,08267 0,4308	-0,05975 0,5716	-0,18519 0,0772
Gama glutamyl transferase	0,14243 0,1732	0,63497 <0,0001	-0,16934 0,1046	-	0,84779 <0,0001	0,59214 <0,0001	0,5537 <0,0001
Fosfatase alcalina	0,14543 0,1643	0,51611 <0,0001	-0,08267 0,4308	0,84779 <0,0001	-	0,39323 0,0001	0,3723 0,0003
Ig G cadeia pesada	0,04512 0,6693	0,49325 <0,0001	-0,05975 0,5716	0,59214 <0,0001	0,39323 0,0001	-	0,91103 <0,0001
Ig G cadeia leve	-0,00897 0,9324	0,46875 <0,0001	-0,18519 0,0772	0,5537 <0,0001	0,3723 0,0003	0,91103 <0,0001	-

## 10.3. APÊNDICE 3

**Tabela 10:** Análises de correlação das variáveis do colostro e dos neonatos do grupo Parto Vaginal. São Paulo, 2022. (continua)

	Sólidos totais - colostro	Proteína total colostrá	Albumina colostrá	Ig G P colostrá	Ig G L colostrá	$\beta$ -lac colostrá	$\alpha$ -lac colostrá	Glicemia	Proteína total neonatal	Albumina neonatal	Gama glutamí transferase	Fosfatase alcalina	Ig G cadeia pesada neonatal	Ig G cadeia leve neonatal
<b>Sólidos totais - colostro</b>	-	0,93411	0,79128	0,87045	0,85939	0,73452	0,44391	-0,42556	-0,41824	0,09003	-0,30376	-0,38231	-0,52161	-0,58721
		<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,014	0,017	0,0214	0,6361	0,1027	0,0371	0,0031	0,0006
<b>Proteína total colostrá</b>	0,93411	-	0,8505	0,9203	0,91834	0,81926	0,5789	-0,4836	-0,46757	0,08257	-0,46631	-0,51762	-0,62038	-0,67853
	<0,0001		<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0008	0,0068	0,0105	0,6702	0,0108	0,004	0,0003	<0,0001
<b>Albumina colostrá</b>	0,79128	0,8505	-	0,82286	0,82246	0,86381	0,74635	-0,47915	-0,49014	0,20182	-0,48932	-0,43165	-0,5988	-0,60012
	<0,0001	<0,0001		<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0074	0,007	0,2938	0,0071	0,0194	0,0006	0,0006
<b>Ig G cadeia pesada colostrá</b>	0,87045	0,9203	0,82286	-	0,99371	0,71667	0,5521	-0,43061	-0,43537	0,00284	-0,48651	-0,54864	-0,61167	-0,67045
	<0,0001	<0,0001	<0,0001		<0,0001	<0,0001	0,0016	0,0197	0,0206	0,9885	0,0087	0,0025	0,0005	<0,0001
<b>Ig G cadeia leve colostrá</b>	0,85939	0,91834	0,82246	0,99371	-	0,72581	0,55569	-0,39831	-0,42005	0,0043	-0,49586	-0,5297	-0,60118	-0,66059
	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001		<0,0001	0,0014	0,0324	0,026	0,9827	0,0073	0,0037	0,0007	0,0001
<b><math>\beta</math>-lactoglobulina colostrá</b>	0,73452	0,81926	0,86381	0,71667	0,72581	-	0,75284	-0,60587	-0,4088	0,2571	-0,30179	-0,27289	-0,58904	-0,59993
	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001		<0,0001	0,0005	0,0308	0,1866	0,1186	0,16	0,001	0,0007
<b><math>\alpha</math>-lactoalbumina colostrá</b>	0,44391	0,5789	0,74635	0,5521	0,55569	0,75284	-	-0,37386	-0,62194	0,07181	-0,56107	-0,42708	-0,58787	-0,5366
	0,014	0,0008	<0,0001	0,0016	0,0014	<0,0001		0,0457	0,0004	0,7165	0,0019	0,0234	0,001	0,0032
<b>Glicemia</b>	-0,42556	-0,4836	-0,47915	-0,43061	-0,39831	-0,60587	-0,37386	-	0,1716	-0,09725	0,03375	0,12336	0,5441	0,55599
	0,017	0,0068	0,0074	0,0197	0,0324	0,0005	0,0457		0,356	0,6028	0,8569	0,5085	0,0016	0,0012
<b>Proteína total neonatal</b>	-0,41824	-0,46757	-0,49014	-0,43537	-0,42005	-0,4088	-0,62194	0,1716	-	0,33305	0,67014	0,72324	0,70623	0,68376
	0,0214	0,0105	0,007	0,0206	0,026	0,0308	0,0004	0,356		0,0671	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
<b>Albumina neonatal</b>	0,09003	0,08257	0,20182	0,00284	0,0043	0,2571	0,07181	-0,09725	0,33305	-	0,25372	0,39452	0,0959	0,1474
	0,6361	0,6702	0,2938	0,9885	0,9827	0,1866	0,7165	0,6028	0,0671		0,1684	0,0281	0,6078	0,4288

<b>Gama glutamil transferase</b>	-0,30376	-0,46631	-0,48932	-0,48651	-0,49586	-0,30179	-0,56107	0,03375	0,67014	0,25372	-	0,77884	0,68756	0,65059
	0,1027	0,0108	0,0071	0,0087	0,0073	0,1186	0,0019	0,8569	<0,0001	0,1684		<0,0001	<0,0001	<0,0001
<b>Fosfatase alcalina</b>	-0,38231	-0,51762	-0,43165	-0,54864	-0,5297	-0,27289	-0,42708	0,12336	0,72324	0,39452	0,77884	-	0,60589	0,63057
	0,0371	0,004	0,0194	0,0025	0,0037	0,16	0,0234	0,5085	<0,0001	0,0281	<0,0001		0,0003	0,0001
<b>Ig G cadeia pesada neonatal</b>	-0,52161	-0,62038	-0,5988	-0,61167	-0,60118	-0,58904	-0,58787	0,5441	0,70623	0,0959	0,68756	0,60589	-	0,98393
	0,0031	0,0003	0,0006	0,0005	0,0007	0,001	0,001	0,0016	<0,0001	0,6078	<0,0001	0,0003		<0,0001
<b>Ig G cadeia leve neonatal</b>	-0,58721	-0,67853	-0,60012	-0,67045	-0,66059	-0,59993	-0,5366	0,55599	0,68376	0,1474	0,65059	0,63057	0,98393	-
	0,0006	<0,0001	0,0006	<0,0001	0,0001	0,0007	0,0032	0,0012	<0,0001	0,4288	<0,0001	0,0001	<0,0001	

## 10.4. APÊNDICE 4

**Tabela 11:** Análises de correlação das variáveis do colostro e dos neonatos do grupo Cesariana Eletiva. São Paulo, 2022. (continua)

	Sólidos totais - colostro	Proteína total colostrá	Albumina colostrá	Ig G P colostrá	Ig G L colostrá	$\beta$ -lac colostrá	$\alpha$ -lac colostrá	Glicemia	Proteína total neonatal	Albumina neonatal	Gama glutamí transferase	Fosfatase alcalina	Ig G cadeia pesada neonatal	Ig G cadeia leve neonatal
<b>Sólidos totais - colostro</b>	-	0,93398 <0,0001	0,82948 <0,0001	0,6228 <0,0001	0,51783 0,0003	0,74102 <0,0001	0,44023 0,0028	0,03749 0,8025	-0,45438 0,0013	-0,08601 0,5654	-0,3499 0,0159	-0,34141 0,0188	-0,54156 <0,0001	-0,57012 <0,0001
<b>Proteína total colostrá</b>	0,93398 <0,0001	-	0,81324 <0,0001	0,60855 <0,0001	0,49705 0,0006	0,75307 <0,0001	0,45134 0,0021	0,07887 0,6066	-0,41279 0,0048	-0,03308 0,8292	-0,29962 0,0455	-0,25758 0,0876	-0,47455 0,001	-0,49677 0,0005
<b>Albumina colostrá</b>	0,82948 <0,0001	0,81324 <0,0001	-	0,69076 <0,0001	0,61119 <0,0001	0,7037 <0,0001	0,42894 0,0037	0,07604 0,6196	-0,49 0,0006	-0,11269 0,4611	-0,2760 0,0665	-0,27685 0,0656	-0,55693 <0,0001	-0,55511 <0,0001
<b>Ig G cadeia pesada colostrá</b>	0,6228 <0,0001	0,60855 <0,0001	0,69076 <0,0001	-	0,97582 <0,0001	0,54949 0,0001	0,7734 <0,0001	-0,36732 0,0142	-0,46293 0,0016	-0,46633 0,0014	-0,21201 0,1671	-0,29104 0,0553	-0,43633 0,0031	-0,38027 0,0109
<b>Ig G cadeia leve colostrá</b>	0,51783 0,0003	0,49705 0,0006	0,61119 <0,0001	0,97582 <0,0001	-	0,45191 0,0021	0,8164 <0,0001	-0,43895 0,0029	-0,44424 0,0025	-0,4917 0,0007	-0,16246 0,292	-0,24808 0,1044	-0,43065 0,0035	-0,36022 0,0163
<b><math>\beta</math>-lactoglobulina colostrá</b>	0,74102 <0,0001	0,75307 <0,0001	0,7037 <0,0001	0,54949 0,0001	0,45191 0,0021	-	0,4967 0,0006	0,01895 0,9028	-0,36732 0,0142	0,19984 0,1934	-0,37923 0,0111	-0,262 0,0858	-0,51697 0,0003	-0,51777 0,0003
<b><math>\alpha</math>-lactoalbumina colostrá</b>	0,44023 0,0028	0,45134 0,0021	0,42894 0,0037	0,7734 <0,0001	0,8164 <0,0001	0,4967 0,0006	-	-0,41946 0,0046	-0,34943 0,0201	-0,29883 0,0488	-0,30339 0,0453	-0,28955 0,0566	-0,43811 0,0029	-0,37473 0,0122
<b>Glicemia</b>	0,03749 0,8025	0,07887 0,6066	0,07604 0,6196	-0,36732 0,0142	-0,43895 0,0029	0,01895 0,9028	-0,41946 0,0046	-	0,31087 0,0334	0,39397 0,0061	0,07721 0,606	0,24416 0,0981	0,06838 0,6479	0,02015 0,893
<b>Proteína total neonatal</b>	-0,45438 0,0013	-0,41279 0,0048	-0,49 0,0006	-0,46293 0,0016	-0,44424 0,0025	-0,36732 0,0142	-0,34943 0,0201	0,31087 0,0334	-	0,24999 0,0901	0,59856 <0,0001	0,50671 0,0003	0,63834 <0,0001	0,63136 <0,0001
<b>Albumina neonatal</b>	-0,08601 0,5654 -0,3499	-0,03308 0,8292 -0,29962	-0,11269 0,4611 -0,27598	-0,46633 0,0014 -0,21201	-0,4917 0,0007 -0,16246	0,19984 0,1934 -0,37923	-0,29883 0,0488 -0,30339	0,39397 0,0061 0,07721	0,24999 0,0901 0,59856	-	-0,13539 0,3642 -0,13539	0,05857 0,6957 0,74695	-0,14222 0,3403 0,42188	-0,15707 0,2917 0,43601

<b>Gama glutamil transferase</b>	0,0159	0,0455	0,0665	0,1671	0,292	0,0111	0,0453	0,606	<0,0001	0,3642		<0,0001	0,0031	0,0022
<b>Fosfatase alcalina</b>	-0,34141	-0,25758	-0,27685	-0,29104	-0,24808	-0,262	-0,28955	0,24416	0,50671	0,05857	0,74695	-	0,29336	0,30781
<b>Ig G cadeia pesada neonatal</b>	-0,54156	-0,47455	-0,55693	-0,43633	-0,43065	-0,51697	-0,43811	0,06838	0,63834	-0,14222	0,42188	0,29336	-	0,9858
<b>Ig G cadeia leve neonatal</b>	<0,0001	0,001	<0,0001	0,0031	0,0035	0,0003	0,0029	0,6479	<0,0001	0,3403	0,0031	0,0454	-	<0,0001
<b>Ig G cadeia leve neonatal</b>	-0,57012	-0,49677	-0,55511	-0,38027	-0,36022	-0,51777	-0,37473	0,02015	0,63136	-0,15707	0,43601	0,30781	0,9858	-
	<0,0001	0,0005	<0,0001	0,0109	0,0163	0,0003	0,0122	0,893	<0,0001	0,2917	0,0022	0,0353	<0,0001	