

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**PADRONIZAÇÃO DA COLHEITA, PERFÍS HEMATOLÓGICO E
ELETROFORÉTICO DAS PROTEÍNAS DO SANGUE DO
CORDÃO UMBILICAL DE GATOS DOMÉSTICOS (*Felis
domesticus*, Linnaeus 1788).**

Aline Vieira Godoy
Médica Veterinária

JABOTICABAL – São Paulo - Brasil

Julho de 2006

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**PADRONIZAÇÃO DA COLHEITA, PERFÍS HEMATOLÓGICO E
ELETROFORÉTICO DAS PROTEÍNAS DO SANGUE DO
CORDÃO UMBILICAL DE GATOS DOMÉSTICOS (*Felis
domesticus*, Linnaeus 1788).**

Aline Vieira Godoy

Orientador: Prof. Dr. Aureo Evangelista Santana

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Cirurgia Veterinária.

JABOTICABAL – São Paulo - Brasil

Julho de 2006

Godoy, Aline Vieira
G589p Padronização da colheita, perfís hematológico e eletroforético das proteínas do sangue do cordão umbilical de gatos domésticos (*Felis domesticus*, Linnaeus 1978) / Aline Vieira Godoy. -- Jaboticabal, 2006
vii, 44 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2006
Orientador: Aureo Evangelista Santana
Banca examinadora: Ana Paula Massae Nakage Canesin, Gilson
Hélio Toniolo
Bibliografia

1. Neonatologia Veterinária 2. Sangue do Cordão Umbilical 3.
Felinos Domésticos I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:616-072.5:636.8

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.
e-mail: alinevgodoy@gmail.com

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

ALINE VIEIRA GODOY - nascida em Sorocaba, em 27 de fevereiro de 1980, de nacionalidade brasileira, recebeu o grau de Médica Veterinária em 2005 na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp, Câmpus de Jaboticabal. Ingressou no curso de mestrado na Área de Cirurgia Veterinária em março de 2005 na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp, Câmpus de Jaboticabal, sendo o mesmo concluído em julho de 2006.

“E assim, depois de muito esperar, num dia como outro qualquer, decidi triunfar...

Decidi não esperar as oportunidades e sim, eu mesmo buscá-las. Decidi ver cada problema como uma oportunidade de encontrar uma solução.

Decidi ver cada deserto como uma possibilidade de um oásis e cada noite como um mistério a resolver.

Decidi ver cada dia como uma nova oportunidade de ser feliz.

Naquele dia descobri que meu único rival não era mais que minhas próprias limitações e que enfrentá-las era a única e melhor forma de superá-las.

Naquele dia, percebi que eu não era o melhor e que talvez nunca tivesse sido.

Deixei de me importar com quem ganha ou perde. Agora me importa simplesmente saber melhor o que fazer.

Aprendi que o difícil não é chegar lá em cima, e sim deixar de subir; e que o melhor triunfo é poder chamar alguém de amigo. Descobri que o amor é mais do que um simples estado de enamoramento, o amor é uma filosofia de vida.

Naquele dia deixei de ser um reflexo dos meus escassos triunfos passados e passei a ser uma tênue luz no presente. Aprendi que de nada vale ser luz e não iluminar o caminho dos demais.

Naquele dia, decidi trocar tantas coisas...

Naquele dia, aprendi que os sonhos existem para tornar-se realidade. E desde aquele dia já não durmo para descansar... agora simplesmente durmo para sonhar”

(Walter Elias Disney)

Dedico

Aos meus pais, Cida e Fernando, meus irmãos Marcelo, Kika e Marcos, por todo amor, amizade e confiança depositada, carinho, respeito e principalmente pelo exemplo de que o esforço e a dedicação sempre valem à pena.

Aos meus sobrinhos Thiago, Felipe, Gabriela e o recém-chegado Enzo, pelos momentos lindos onde esses pequenos me mostram a alegria da vida.

Ao meu namorado Tiago pela presença fiel, por apostar em mim, pelo incentivo, paciência, ajuda e por todo o amor, carinho e amizade, muito obrigada.

Agradeco

A Deus em primeiro lugar, pelo beneficio da vida.

Ao meu professor, orientador e amigo, Áureo Evangelista Santana, pela oportunidade oferecida, por confiar em mim e pelo aprendizado proporcionado desde minha iniciação científica.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro fornecido.

Aos professores Wilter Ricardo R. Vicente e Gilson Hélio Toniolo, residentes e funcionários que passaram pelo setor de Obstetrícia Veterinária, pela paciência, ajuda oferecida, pelos ensinamentos e por permitir a nossa entrada no setor.

À acima de qualquer coisa, amiga Ana Paula M. Nakage, pelo trabalho que desenvolvemos juntas, por ser para mim um exemplo a ser seguido de profissional e pessoa principalmente, pela paciência, companheirismo e por toda alegria e dúvidas repartidas nesses anos.

Às queridas amigas Marina Ceccato Mendes e Daniela Cristina Di Mauro, que embora distanciadas pelo caminho de nossas vidas serão sempre lembradas por me ajudarem a entender o verdadeiro significado da palavra amizade.

A todos os meus familiares, pela ajuda incondicional na realização deste sonho.

Às novas amigas Rosana Zanatta e Vanessa Páfaro por provarem que boas pessoas sempre cruzam os nossos caminhos.

Aos funcionários do Hospital Veterinário e do Laboratório de Patologia Clínica, pela convivência harmoniosa e pela colaboração valiosa.

Às colegas de laboratório Alessandra, Maria Luisa, Patrícia, Paula, Flávia, Fernanda, entre outras, pelas valiosas sugestões e exemplos que me fizeram enxergar o que quero e o que não quero para mim.

Ao gatil Kolenitenko por abrir as portas de uma forma tão gentil e confiar em mim.

Às amáveis gatinhas que me deixaram presenciar um momento tão mágico de suas vidas.

Ao professor José Jurandir Fagliari, pelos conselhos e ajuda proporcionada.

A todos que colaboraram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE ABREVIATURAS.....	iii
LISTA DE FIGURAS.....	iv
RESUMO.....	vi
“SUMMARY”.....	vii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1. Aspectos gerais da hematopoese.....	2
2.2. Hematologia Veterinária.....	3
2.3. Avaliação do recém-nascido.....	4
2.4. Colheita e Avaliação do Sangue do Cordão Umbilical Humano.....	5
2.5. Colheita e Estudo do Sangue do Cordão Umbilical em Cães.....	6
2.6. Características Anatômicas do Cordão Umbilical e dos Anexos Fetais em Gatos.....	8
2.7. Perfil Eletroforético.....	9
3. OBJETIVOS	11
3.1. Objetivos Gerais	11
3.2. Objetivos Específicos.....	12
4. MATERIAL E MÉTODOS	12
4.1. Parcelas Experimentais.....	12
4.2. Colheita do Sangue do Funículo Umbilical.....	12
4.3. Processamento do Sangue.....	15
4.3.1. Avaliação Hematológica.....	15
4.3.2. Avaliação das Proteínas Séricas Totais.....	15
4.3.3. Eletroforese.....	16
5. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	18

6. RESULTADOS.....	17
7. DISCUSSÃO.....	24
8. CONCLUSÕES.....	28
9. REFERÊNCIAS.....	29
APÊNDICES	

LISTA DE ABREVIATURAS

BAS – Basófilo;
CHCM - Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média;
CPDA – Citrato-Fosfato-Dextrose-Adenina;
EDTA - Ácido Etilenodiamino Tetraacético;
EOS – Eosinófilo;
FeLV – Vírus da Leucemia Felina;
FIV – Vírus da Imunodeficiência Felina;
HDL – Lipoproteínas de alta densidade (alfalipoproteínas);
He – Hemácias;
Hb – Hemoglobina;
HCM – Hemoglobina Corpuscular Média;
Ht – Hematócrito;
Ig – Imunoglobulinas;
LEU – Leucócito;
LINF – Linfócito;
MON – Monócito;
MGG –May-Grunwald-Giemsa;
NB – Neutrófilo Bastonete;
NS – Neutrófilo Segmentado;
PT – Proteína Total;
SCU – Sangue do Cordão Umbilical;
VCM – Volume Corpuscular Médio;
VLDL – Lipoproteínas de muito baixa densidade (pré-betalipoproteínas).

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Procedimento de colheita de sangue do cordão umbilical. A) Fotografia do neonato e placenta; B) Esquema do neonato e placenta, com suas subporções; a) porção justafetal; b) porção justaplacentária; C) Clampeamento com pinças hemostáticas em porção justafetal do cordão umbilical; a) linha de secção; D) Colheita de sangue do cordão umbilical em porção justaplacentária. Jaboticabal (SP), 2006.....	14
Figura 2 Fita de agarose contendo o traçado eletroforético de sangue periférico de SCU de felinos domésticos ao nascimento. Jaboticabal (SP), 2006.....	17
Figura 3 Traçado eletroforético e valores das frações protéicas (albumina, alfa ₁ , alfa ₂ , beta ₁ , e gamaglobulinas) realizado no sangue do cordão umbilical de felinos domésticos, ao nascimento. Jaboticabal (SP), 2006.....	17
Figura 4 – Valores médios e desvios-padrão obtidos para o peso do recém-nascido, da placenta e volume do SCU de gatos domésticos neonatos. Jaboticabal (SP), 2006.....	19
Figura 5 – Valores médios e desvios-padrão obtidos para contagem global de Hemácias (He), concentração de Hemoglobina (Hb), taxa de Hematócrito (Ht), Volume Corpuscular Médio (VCM), Hemoglobina Corpuscular Média (HCM), Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM) e plaquetas do SCU de gatos domésticos neonatos. Jaboticabal (SP), 2006.....	20
Figura 6 – Valores médios e desvios-padrão relativos e absolutos para a contagem de leucócitos (LEU), basófilos (BAS), eosinófilos (EOS), neutrófilos bastonetes (NB), neutrófilos segmentados (NS), linfócitos (LINF) e monócitos (MON) do SCU de gatos domésticos neonatos. Jaboticabal (SP), 2006.....	21
Figura 7 – Valores médios dos teores séricos relativos de proteínas totais (PT), albumina, α_1 , α_2 , β e γ -globulinas no sangue do cordão umbilical de gatos domésticos neonatos. Jaboticabal (SP), 2006.....	22

Figura 8 – Valores médios e desvios-padrão dos teores séricos absolutos de proteínas totais (PT), albumina, α_1 , α_2 , β e γ -globulinas no sangue do cordão umbilical de gatos domésticos neonatos. Jaboticabal (SP), 2006.....	23
--	----

**PADRONIZAÇÃO DA COLHEITA, PERFÍS HEMATOLÓGICO E ELETROFORÉTICO
DAS PROTEÍNAS DO SANGUE DO CORDÃO UMBILICAL EM GATOS
DOMÉSTICOS (*Felis domesticus*, Linnaeus 1788)**

RESUMO - A população de gatos domésticos (*Felis domesticus*), vivendo em relação com o homem, na condição de animal de companhia, tem se elevado nos últimos anos. Paralelamente, há um crescimento na demanda por novos estudos sobre a espécie, como a padronização de valores fisiológicos dos felinos. Estudos hematológicos e imunológicos na espécie vêm sendo realizados, porém existe uma carência de dados referentes a estes parâmetros em felinos ao nascimento. Sendo assim, objetivou-se neste protocolo experimental, padronizar um método de colheita e definir o perfil hematológico e eletroforético do sangue do cordão umbilical desta espécie, ao nascimento. Foi colhido sangue de 20 neonatos com seringa de três mililitros e agulhas descartáveis (25x7). O material foi distribuído em alíquotas, sendo o sangue com anticoagulante submetido à contagem global de hemácias, leucócitos e plaquetas, além da contagem diferencial de leucócitos em esfregaços sangüíneos corados com May-Grunwald e Giemsa. A alíquota sérica, após sinérese, teve suas proteínas fracionadas eletroforeticamente. Os valores hematológicos do SCU, exceto o VCM, apresentaram-se semelhantes ou relativamente reduzidos com relação àqueles de gatos recém-nascidos e adultos e, os valores médios absolutos obtidos para proteínas séricas totais, albumina, alfa, beta e gamaglobulinas no sangue do cordão umbilical de gatos ao nascimento foram 4.75 ± 0.90 , $2,29 \pm 0.45$, 1.12 ± 0.28 , 1.18 ± 0.61 e 0.12 ± 0.04 g/dL, respectivamente. O método de colheita realizado mostrou-se capaz de determinar com sucesso o perfil hematológico e eletroforético do sangue do cordão umbilical de felinos neonatos.

Palavras-chave: cordão umbilical, felinos, hematimetria, proteinograma, neonatologia.

STANDARDIZATION OF HARVESTING AND PROFILING OF HEMATOLOGY AND

ELECTROPHORESIS OF THE UMBILICAL CORD BLOOD OF DOMESTIC CATS (*Felis domesticus*, Linnaeus 1788)

SUMMARY – The domestic cats population (*Felis domesticus*), living in strict relations with man in the condition of companion animals have greatly increased in the last few years. Meanwhile, development in the demand from new studies about this species are presented, like standardization of its fisiological values. Hematological and imunological studies in this species are being made, although there's a lack of data regarding this standards in newborn felines. Therefore, the objective of this experimental protocol was to perform the standardization of a harvesting method and to define a hematological and eletrophoretical profile of the umbilical cord blood of this species, at birth. Blood was harvested from 20 newborn cats with tree mililiters syringes and disposable needles (25x7). The harvested material was distributed in aliquots, being the blood with anticoagulant submitted to total counting of platelets, red and white blood cells, and differential white blood cells count in blood smears tainted with May-Grunwald and Giemsa. Serical aliquot, after sinerisis, had its proteins fracionated by eletrophoresis. Hematological values of the umbilical cord blood, except VCM, were similar or slightly reduced when compared to those from newborn and adult cats, and the absolute medium values from total seric protein, albumin, alfa, beta and gamaglobulins from newborn cat's umbilical cord blood were 4.75 ± 0.90 , $2,29 \pm 0.45$, 1.12 ± 0.28 , 1.18 ± 0.61 e 0.12 ± 0.04 g/dL, respectively. The harvesting method was showned able to perform succesfully the hematological and eletrophoretical profile of the newborn feline's umbilical cord blood.

Key-words: feline, hematology, neonatology, proteinogram, umbilical cord.

1 INTRODUÇÃO

O campo de pesquisa na área de neonatologia de cães e gatos é vasto, e ainda pouco explorado. O conhecimento das particularidades biológicas que envolvem a gestação e o acompanhamento do desenvolvimento fetal e neonatal é de grande importância, dado que muitos distúrbios orgânicos têm origem nesse período.

A população de gatos domésticos (*Felis domesticus*), vivendo em estreita relação com o homem na condição de animal de companhia, tem se elevado nos últimos anos. Paralelamente, há um crescimento na demanda por novos estudos sobre a espécie, tais como a padronização de valores fisiológicos dos felinos. O estudo hematológico, juntamente com o imunológico desta espécie é importante, em razão das doenças que afetam seu sistema imune.

Métodos diagnósticos atuais em felinos recém-nascidos levam em consideração principalmente reações posturais e alguns reflexos presentes ao nascimento, sendo que embora estes sejam de fácil realização e grande valia na análise do estado clínico geral do animal, apresentam resultados estritamente subjetivos. Técnicas mais acuradas como o estudo do quadro hematológico e eletroforese das proteínas séricas dos felinos vêm sendo mensuradas nos últimos anos, em diferentes faixas etárias. Entretanto, não há relatos sobre esta análise em felinos neonatos.

As determinações dos perfís hematológico e eletroforético de neonatos podem ser realizadas pela avaliação de sangue colhido do cordão umbilical dos mesmos. Este método de colheita encontra-se atualmente padronizado para espécie canina, bem como seu proteinograma. É relevante considerar que, a colheita do SCU, comparativamente com outros métodos, não oferece risco ao doador, não requer hospitalização, não necessita de anestesia geral, não causa desconforto, causa risco reduzido de infecções e rejeição. Com base nestes estudos, foi proposto a padronização de um método de colheita do SCU de felinos neonatos para avaliação hematológica e eletroforética.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ASPECTOS GERAIS DA HEMATOPOESE

O desenvolvimento das células sangüíneas tem início na fase embrionária, no interior do saco vitelínico, onde células mesenquimais primitivas produzem as chamadas células-tronco hematopoéticas. As células-tronco do saco vitelínico, por sua vez, semeiam o fígado, baço, linfonodos e timo do feto, expandindo o território de formação das células sangüíneas. Ao final do primeiro terço de vida intra-uterina, o fígado fetal assume o papel principal na hematopoese. Por volta da metade do período de vida intra-uterina, formam-se cavidades medulares no interior dos ossos, e a hematopoese vem rapidamente em seguida. Ao final desse período, a medula óssea torna-se o principal local de desenvolvimento das células sangüíneas, precedida pelo baço, produzindo granulócitos, monócitos, eritrócitos, megacariócitos e alguns linfócitos. Contudo, a maior parte dos linfócitos é produzida em áreas extramedulares, como no timo, baço, linfonodos, tonsilas, tecidos linfóides associados ao intestino e aos brônquios (LATIMER, 1997).

A maioria dos ossos do corpo está engajada na produção das células sangüíneas por ocasião do nascimento, mas à medida que a idade adulta se aproxima, a hematopoese tem continuidade principalmente na medula óssea localizada no interior das vértebras, costelas, esterno, pelve e ossos longos proximais. A hematopoese pode ser retomada no interior das diáfises dos ossos longos, baço e fígado, secundariamente à demanda aumentada, em algumas situações especiais, ou em razão de uma proliferação desordenada das células hematopoéticas, particularmente, em estados neoplásicos (LATIMER, 1997).

Estudos em animais letalmente irradiados e submetidos à transfusão de sangue *in vivo*, e de culturas de medula óssea *in vitro* indicam que as células sangüíneas são derivadas de células-tronco pluripotenciais comuns, que têm o aspecto morfológico de pequenos linfócitos (SCHADER, 1984; LEE et al., 1993). Estudos recentes em humanos

têm revelado a plasticidade das células-tronco, que podem se diferenciar em células não hematopoéticas de vários tecidos, incluindo aquelas do sistema nervoso central (JIN et al., 2002), pulmões (THEISE et al., 2002), músculo esquelético (GUSSONI et al., 2002), do fígado (AUSTIN et al., 2003), pâncreas (IANUS et al., 2003), pele (BADIAVAS et al., 2003), trato gastrointestinal (OKAMOTO et al., 2002) e coração (TSE et al., 2003).

As células-tronco estão presentes no interior da medula óssea e sangue periférico, e podem sofrer auto-replicação e/ou diferenciar-se num microambiente favoravelmente indutor da hematopoese, sob influência dos fatores de crescimento (GOLDE & TAKATU, 1985). Além disso, estudos iniciais em humanos estabeleceram que as células-tronco também estão presentes no parênquima hepático do embrião (RICE et al., 1994) e sangue do cordão umbilical (GLUCKMAN et al., 1989; WAGNER et al., 1992).

Após grave insulto à medula óssea, conseqüente à lesão induzida pela irradiação, destruição celular por parvovírus, ou intoxicação medicamentosa, as células-tronco viáveis podem promover a repopulação da medula óssea, que resultará em leucometrias sangüíneas normais dentro de sete a 14 dias (LATIMER, 1997).

A capacidade proliferativa das células-tronco declina com o passar do tempo (LIPSCHITZ et al., 1984), podendo causar implicações clínicas à recuperação da medula óssea em animais idosos, após agressão medular. Um exemplo prático desta redução no potencial proliferativo das células-tronco medulares pode ser observado em casos de hipoplasia medular induzida por estrógenos, em cães, cujos animais jovens se recuperam mais rapidamente (LATIMER, 1997).

2.2 HEMATOLOGIA VETERINÁRIA

A importância da hematologia como meio de investigação clínico-patológica, auxiliando os veterinários a estabelecer diagnósticos, firmar prognósticos e acompanhar os tratamentos das inúmeras enfermidades que atingem os animais domésticos é reconhecida e consagrada mundialmente. Entretanto, para que esses objetivos possam ser alcançados e utilizados na plenitude, é essencial o conhecimento dos valores de

referência do hemograma dos animais saudáveis, bem como dos fatores causadores de suas variações (O'BRIEN et al., 1998; BIRGEL JUNIOR, 2001).

O gato doméstico (*Felis domesticus*) vem sendo usado há muito tempo na pesquisa animal. Sua importância como animal de companhia vem crescendo nos últimos anos e, paralelamente, há um crescimento na demanda por novos estudos relativos à fisiologia e fisiopatologia da espécie. Há relativa escassez de informações sobre gatos na literatura médica veterinária, quando comparados com cães ou ratos. No entanto, há um grande número de estudos relatando alterações hematológicas, em felinos, em diferentes estados patológicos (O'BRIEN et al., 1998).

Recentemente, houve importante desenvolvimento no que diz respeito à padronização de valores hematológicos para a espécie felina, incluindo os gatos domésticos (*Felis domesticus*) (O'BRIEN et al., 1998), o gato selvagem europeu (*Felis silvestris*) (MARCO et al., 2000) e o lince vermelho (*Felis rufus*) (FULLER et al., 1985; MILLER et al., 1999). Entretanto, não existem relatos sobre os valores hematológicos de felinos neonatos.

2.3 AVALIAÇÃO DO RECÉM-NASCIDO

Em medicina veterinária, a avaliação das reações posturais dos recém-nascidos pode ser correlacionada a um indicador de saúde dos filhotes ao nascimento. Alguns dos reflexos presentes ao nascimento passíveis de avaliação incluem reflexo de sucção, reflexo magno, reflexo de extensão do pescoço, reflexo anogenital, aprumo vestibular e resposta à dor-reflexo do flexor (FEITOSA & CIARLINI, 2000; CRISSIUMA et al., 2002). No entanto, tal método de avaliação, embora de fácil realização e de grande valor na determinação do estado clínico do recém-nascido, é subjetivo, e, portanto, pouco acurado (CRISSIUMA, 2003; CRISSIUMA et al., 2005).

O campo de pesquisa na área de neonatologia de cães e gatos é vasto e, ainda, pouco explorado. O conhecimento das particularidades biológicas que envolvem a gestação e o acompanhamento do desenvolvimento fetal e neonatal é de grande importância, já que muitos distúrbios orgânicos têm origem nesse período (CRISSIUMA,

2003). A compreensão dos eventos fisiológicos, bioquímicos, hematológicos hemogasométricos e até mesmo emocionais envolvidos no nascimento é fundamental na assistência médica a todos os tipos de parto, assim como intercorrências durante ou logo após o parto (SHNIDER & LEVINSON, 1995; ENGLAND, 1998; CRISSIUMA, 2003). A inclusão da análise do quadro hematológico no protocolo de exames dos recém-nascidos torna sua avaliação mais completa e objetiva.

2.4 COLHEITA E AVALIAÇÃO DO SANGUE DO CORDÃO UMBILICAL HUMANO

O SCU, na espécie humana, é colhido por punção da veia umbilical utilizando-se seringas (HARRIS et al., 1994) ou bolsas coletoras contendo CPDA (citrato-fosfato-dextrose-adenina). A colheita de SCU em bolsas coletoras fechadas e estéreis reduz tanto contaminação bacteriana quanto fúngica (SOUSA et al., 1997; ARMITAGE et al., 1999).

Ademais, a colheita do SCU não oferece risco ao doador, não requer hospitalização, não necessita de anestesia geral, não causa desconforto, apresenta risco reduzido de infecções e rejeição; tendo assim, vantagens sobre a colheita de medula óssea (RUBINSTEIN et al., 1993; WAGNER, 1993), quando se tem em mente o transplante de células-tronco.

Vários métodos de colheita do SCU humano têm sido propostos, sendo que, fatores relacionados ao parto podem influenciar as características do SCU (AUFDERHAAR et al., 2003) dentre os quais, tipo de parto (NIKISCHIN et al., 1997; YAMADA et al., 2000; SPARROW et al., 2002; SOLVES et al., 2003) e dequitação placentária (SURBEK et al., 2000; LASKY et al., 2002; PAFUMI et al., 2002; SPARROW et al., 2002; SOLVES et al., 2003).

A importância do estudo do SCU tem sido verificada em trabalhos recentes que têm demonstrado a presença de células-tronco no referido SCU humano, representando uma fonte alternativa ao transplante alogênico de medula óssea para reconstituição hematopoética (GLUCKMAN et al., 1989; BROXMEYER et al., 1991; VILMER et al., 1992; WAGNER et al., 1992).

CHRISTENSEN (1989) relatou a importância do estudo do sistema hematopoético fetal para desvendar os mecanismos compensatórios patofisiológicos observados em várias citopenias neonatais. BROXMEYER et al. (1991) avaliaram as células nucleadas progenitoras, assim como a esterilidade de, pelo menos, 100 amostras de SCU antes e após a criopreservação. O SCU permaneceu viável a 4°C ou 25°C por, no mínimo, três dias após a colheita.

RUBINSTEIN et al. (1995) realizaram a contagem global dos eritrócitos, leucócitos e plaquetas, de cada unidade de sangue do cordão umbilical, com o auxílio de um contador automático de células, assim como a contagem diferencial de células leucocitárias maduras e de seus precursores por meio de esfregaços corados com May-Grunwald e Giemsa (MGG).

Valores hematológicos (exceto o número de hemácias e a concentração de hemoglobina corpuscular média) e células progenitoras hematopoéticas de SCU de fetos apresentaram-se mais elevados do que aqueles obtidos no sangue periférico de adultos saudáveis, quando avaliados por contadores automáticos de células, citometria de fluxo e culturas celulares semi-sólidas (CHASIRIPOOMKERE et al., 1999).

2.5 COLHEITA E ESTUDO DO SANGUE DO CORDÃO UMBILICAL DE CÃES

Há relatos escassos referentes ao SCU de cães (CAPUA et al., 2005; NAKAGE et al., 2005; GODOY et al., 2006) sendo que não há referências bibliográficas sobre a caracterização e quantificação das células do sangue do cordão umbilical de felinos domésticos.

NAKAGE et al. (2002) colheram o SCU de 20 cães neonatos, a termo, por intermédio da punção de vasos sanguíneos da porção justaplacentária do cordão umbilical, com seringas de cinco mL contendo EDTA e verificaram que, a quantidade de reticulócitos (9,09%) no SCU de cães neonatos é maior do que a verificada no sangue periférico de cães recém-nascidos com zero a três dias de idade (6,5%) e de cães adultos (0 a 1,5%).

Os valores hematológicos do SCU de cães neonatos a termo apresentaram-se semelhantes aos valores de referência do sangue periférico de cães adultos saudáveis. Porém, foram verificadas policromasia, macrocitose e hipocromia, indicando a presença de células jovens no SCU de cães (NAKAGE et al., 2003). O tipo de parto influencia os valores hematológicos do SCU de cães, sendo que as contagens de células nucleadas, tanto polimorfonucleares quanto mononucleares, do SCU colhido em partos normais, mostraram-se superiores às obtidas após cesarianas (NAKAGE et al., 2005).

NAKAGE et al. (2004) reportaram a quantidade de células-tronco ($4,64 \pm 3,19$ CD34⁺ $\times 10^6$ /kg) no SCU de cães, utilizando-se da imunomarcagem com anticorpo monoclonal anti-CD34 canino e leitura citofluorométrica.

NAKAGE et al. (2005) padronizaram a técnica de colheita, caracterizaram e quantificaram as células sanguíneas do cordão umbilical de 20 cães neonatos, analisando eritrócitos, reticulócitos, leucócitos, plaquetas, hematócrito e concentração de hemoglobina.

CAPUA et al. (2005) conduziram estudos eritroleucométricos e quantificaram os linfócitos T CD5⁺, CD4⁺ e CD8⁺ do SCU canino. A razão CD4: CD8 ($9,21 \pm 3,77$) encontrada demonstrou a grande dominância das células T CD4⁺ sobre os linfócitos T CD8⁺ no SCU canino. A superioridade absoluta do número de células CD4⁺ no SCU, verificada neste experimento, reflete, segundo os supracitados autores, um mecanismo fisiológico de tolerância do sistema imune na relação entre mãe e feto.

CRISSIUMA (2005) avaliou aspectos cardiorrespiratórios e ácidos-básicos do período de transição fetal-neonatal em cães com o uso da hemogasometria do SCU em cesarianas eletivas.

GODOY et al. (2006) estudaram o proteinograma do sangue do cordão umbilical de cães ao nascimento utilizando-se do método eletroforético em gel de agarose e determinaram as concentrações das proteínas séricas totais, albumina, alfa, beta e gamaglobulinas.

2.6 CARACTERÍSTICAS ANATÔMICAS DO CORDÃO UMBILICAL E DOS ANEXOS FETAIS DE GATOS

O cordão umbilical é uma estrutura funicular de conexão do feto à placenta, estando precocemente presente no desenvolvimento embrionário. Ele é composto pelas regiões amniótica e alantoídea (SCHWARZE et al., 1970; SIMÕES, 1984).

Segundo AMBRÓSIO et al. (2000), o funículo umbilical de fetos de gatos domésticos pode ser dividido em três porções: justafetal, porção média e justaplacentária. Na porção justafetal, encontramos duas artérias, uma veia, um pedículo alantóide e um pedículo vitelíneo; no terço médio, encontram-se as bifurcações das artérias umbilicais e ramos arteriais placentários fetais centrais, marginais e coriônicos tanto esquerdos quanto direitos. Na porção justaplacentária, encontram-se as inserções ou emergências dos vasos arteriais e venosos, respectivamente, ramificados sobre o tecido placentário.

A placenta da gata é do tipo zonária, anelar completa, podendo ter falhas de tecido placentário, onde se identifica a presença de fissura placentária; ela recebe irrigação de duas artérias umbilicais oriundas da aorta abdominal. Estas se distribuem em ramos dispostos sobre a placenta ou cório. Estes ramos são o ramo placentário fetal central, o ramo placentário fetal marginal e o ramo placentário coriônico. A placenta é drenada pelos ramos venosos placentários centrais, ramos venosos placentários marginais ou ramos placentários coriônicos, que sempre estão presentes junto aos vasos arteriais; e não há anastomoses entre os vasos, portanto não há mistura de sangue arterial e venoso no funículo umbilical e placenta (AMBRÓSIO et al., 2000).

O comprimento do funículo umbilical do felino corresponde a um terço do comprimento do feto, e pode ser considerado bastante resistente, suportando até três vezes o peso do feto, desse modo não costuma romper-se sozinho e é comum que a parturiente proceda à sua ruptura por mastigação (SCHWARZE et al., 1970).

2.7 PERFIL ELETROFORÉTICO

As proteínas são substâncias indispensáveis à vida, representando a base da estrutura de células, tecidos e órgãos. Funcionam como catalisadores enzimáticos nas reações bioquímicas, carreadores de muitos constituintes do plasma e na defesa orgânica como anticorpos (JAIN, 1993; KANEKO et al., 1997).

Pelo significado biológico e múltiplas funções exercidas no organismo, o conhecimento e avaliação das concentrações séricas das proteínas totais e de suas frações (albumina, alfa globulinas, beta globulinas e gama globulinas), representam importante auxílio ao diagnóstico clínico (KANEKO et al., 1997).

O metabolismo e a quantidade de proteínas presentes no soro de animais neonatos podem sofrer influência de diversos fatores, dentre os quais devem ser destacados a ingestão do colostro e a idade. Ao nascimento, os animais domésticos exibem baixos teores protéicos e, após receberem o colostro, apresentam um aumento nas proteínas totais, devido à absorção intestinal de macromoléculas, incluindo as imunoglobulinas (BUTLER, 1969; FELDMAN et al., 2000). Posteriormente, inicia-se uma gradativa diminuição nas taxas séricas de proteínas, decorrente do catabolismo das imunoglobulinas adquiridas passivamente por intermédio da ingestão do colostro materno, até verificar-se uma estabilização que reflete a produção endógena de imunoglobulinas pelo neonato (TENNANT & GUERRA, 1969; HUSBAND et al., 1972).

Dentre os métodos utilizados para qualificar e quantificar as diferentes frações de proteínas séricas destaca-se a eletroforese (KANEKO et al., 1997; FELDMAN et al., 2000).

O fracionamento eletroforético representa um dos mais confiáveis métodos de identificação e quantificação de proteínas sangüíneas (KANEKO et al., 1997). A técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) permite a detecção de concentrações protéicas extremamente baixas e a identificação de 20 a 30 tipos diferentes de proteínas incluindo as imunoglobulinas, ceruloplasmina, transferrina, hemopexina, albumina, antitripsina, haptoglobina, tripsina, dentre outras, necessitando de diminutas quantidades de amostra (GORDON, 1995). Os traçados

eletroforéticos em filmes de agarose (DOXEY & KEAY, 1982; MATTEWS, 1982) ou fitas de celulose (FAGLIARI et al., 1983; FAGLIARI et al., 1991) possibilitam a separação de cinco a sete frações protéicas.

As globulinas, geralmente, são separadas em frações alfa, beta e gama, as quais contêm grupos de proteínas com padrões de migração eletroforética similares. A concentração sérica de cada fração é determinada e comparada com os valores de referência de cada espécie. O eletroforetograma aporta informações sobre elevações e decréscimos nas concentrações séricas das diferentes frações protéicas, bem como sobre a homogeneidade das sub-frações, em uma dada fração. Alterações nos padrões das frações protéicas não são características de uma doença em particular, mas podem trazer importantes informações diagnósticas quando usadas em conjunto com outros achados clínicos e laboratoriais (FELDMAN et al., 2000).

Em relação às globulinas, a fração alfa é a que migra mais rapidamente e, na maioria das espécies, exceto nos ruminantes, desdobra-se nas sub-frações alfa-1 e alfa-2. As proteínas mais importantes destas sub-frações são as alfalipoproteínas (HDL), que migram como alfa-1, as pré-betalipoproteínas (VLDL) e haptoglobinas, as quais migram na região de alfa-2 (KANEKO et al., 1997).

As betaglobulinas fracionam-se eletroforeticamente em beta-1 e beta-2, na maioria dos animais domésticos, exceto nos ruminantes. Algumas das proteínas importantes que compõem tais sub-frações são aquelas do complemento (C3 e C4), hemopexina, transferrina, ferritina, proteína C-reativa e fibrinogênio. Por outro lado, as imunoglobulinas IgM e IgA, prolongam-se da região beta 2 para gama 2. Assim, na resposta ao estímulo antigênico do agente infeccioso ou nos casos de doenças linfoproliferativas envolvendo as células plasmáticas, as imunoglobulinas podem migrar na zona beta-2, bem como nas zonas gama-1 e gama-2 (KANEKO et al., 1997).

Na maioria dos animais, a fração gama também se subdivide em duas sub-frações, gama-1 e gama-2. As imunoglobulinas IgA, IgM e IgE são encontradas primariamente na região gama-1 e a IgG na região gama-2 (KANEKO et al., 1997).

A determinação das concentrações séricas de proteínas vem se tornando um procedimento valioso para o entendimento dos processos fisiopatológicos, sendo

utilizado em animais sadios e doentes. Pesquisas recentes têm evidenciado que a qualificação e a quantificação de proteínas séricas podem subsidiar o diagnóstico e trazer valiosas informações prognósticas e de monitoramento de doenças (ECKERSALL, 2000).

OKOSHI et al. (1967) publicaram análise completa de proteínas séricas em gatos hígidos por imunoeletroforese. Foram agrupados 50 animais de acordo com a sua idade, sendo que dentre os quais, somente três animais eram neonatos que ainda não haviam ingerido colostro. A eletroforese em acetato de celulose dos referidos animais não revelou a presença da fração gamaglobulina.

Valores percentuais e absolutos de referência da concentração de proteínas séricas em cães, gatos, cavalos, ovelhas e vacas foram definidos por DOXEY & KEAY (1982), porém, valores referentes a neonatos não foram investigados.

GODOY et al. (2006) elaboraram protocolo experimental para determinação do perfil eletroforético do SCU de cães, sendo colhido material de 20 animais para fracionamento de suas proteínas. Neste ensaio, os valores médios absolutos obtidos para proteínas séricas totais, albumina, alfa, beta e gamaglobulinas foram $3,09 \pm 0,59$; $1,51 \pm 0,38$; $0,87 \pm 0,17$; $0,68 \pm 0,12$ e $0,03 \pm 0,01$ g/dL, respectivamente; além disso, em todos os traçados, foi observada uma pequena curva entre alfa₂ e beta₁.

3 OBJETIVOS

3. 1. OBJETIVOS GERAIS

As principais metas do presente estudo foram padronizar o método de colheita e estabelecer valores eritroleucométricos, plaquetários e o perfil eletroforético do SCU de gatos domésticos ao nascimento.

3. 2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Paralelamente aos objetivos principais, objetivou-se determinar o peso dos neonatos e placenta, em gramas, e o volume sangüíneo total colhido do cordão umbilical (μL).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 PARCELAS EXPERIMENTAIS

O SCU foi colhido de 20 neonatos, oriundos de gatas da raça persa, sadias, em condições de parto normal e provenientes do gatil Kolenitenko, Sorocaba (SP).

As gatas foram submetidas à avaliação clínica, hematológica e sorológica para o vírus da imunodeficiência felina (FIV) e para aquele da leucemia felina (FeLV), vacinadas e vermifugadas.

4.2 COLHEITA DO SANGUE DO FUNÍCULO UMBILICAL

Após o nascimento, foi realizada a liberação do neonato dos seus respectivos envoltórios placentários, clampeamento do cordão umbilical na porção justafetal com auxílio de duas pinças hemostáticas e, finalmente, secção do cordão umbilical e separação do feto e placenta. A placenta de cada neonato foi posicionada em plano elevado para que o SCU fluísse e fosse colhido por punção de veias umbilicais e placentárias com seringa de três mililitros e agulhas descartáveis 25x7, e imediatamente dividido em duas alíquotas envasadas em *ependorfs*, sendo uma com anticoagulante EDTA, destinada à avaliação hematológica, e outra sem anticoagulante, destinada ao estudo do quadro seroprotéico (Figura 1).

Logo após a colheita, foram determinados o volume de SCU de cada filhote, assim como, o peso do filhote e da respectiva placenta.

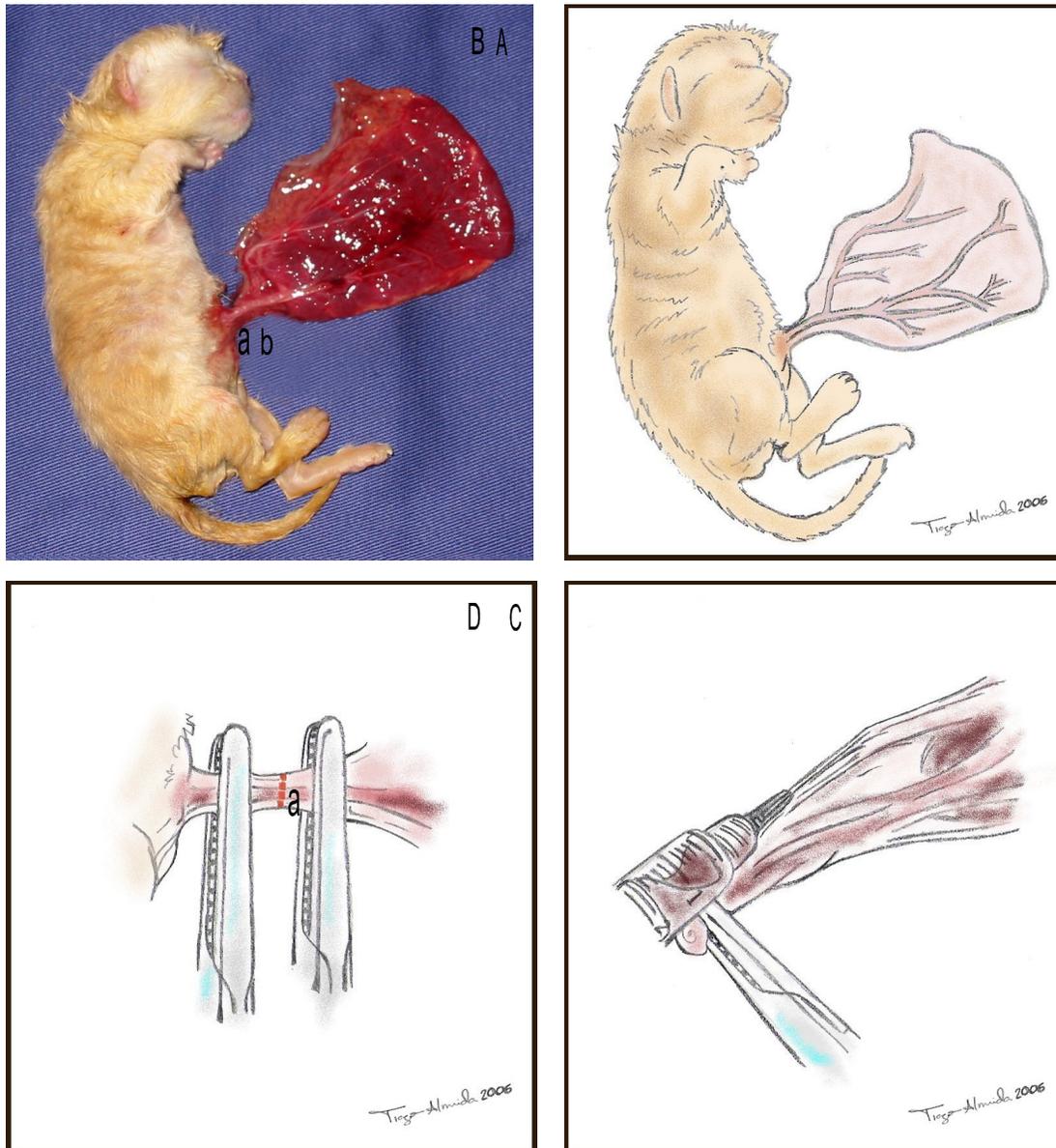


Figura 1. Procedimento de colheita de sangue do cordão umbilical. A) Fotografia do neonato e placenta; B) Esquema ilustrativo do neonato e placenta, com suas subporções; a) porção justafetal; b) porção justaplacentária; C) Clampeamento com pinças hemostáticas em porção justafetal do cordão umbilical; a) linha de secção; D) Colheita de sangue do cordão umbilical em porção justaplacentária. Jaboticabal (SP), 2006.

4.3 PROCESSAMENTO DO SANGUE

Imediatamente após a colheita, o SCU foi submetido a estudos laboratoriais no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário “Governador Laudo Natel” da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, Câmpus de Jaboticabal.

Sendo que, a alíquota de sangue adicionado de anticoagulante foi submetida à avaliação hematológica e a alíquota sem anticoagulante foi centrifugada para obtenção do soro e posterior avaliação das proteínas totais e fracionamento eletroforético das proteínas.

4.3.1 Avaliação hematológica

As avaliações laboratoriais realizadas foram contagens globais de hemácias, leucócitos e plaquetas, assim como determinação da concentração de hemoglobina, taxa de hematócrito e índices hematimétricos (Volume Corpuscular Médio – VCM, Hemoglobina Corpuscular Média - HCM e Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média – CHCM), todos com o auxílio do contador automático de células ACT-8 Coulter e contagem diferencial dos leucócitos em esfregaços sangüíneos corados com May-Grunwald e Giemsa (MGG).

4.3.2 Avaliação das proteínas séricas totais

As determinações das concentrações séricas de proteínas totais foram avaliadas pelo método do Biureto, utilizando-se conjunto de reagentes¹ com leituras em espectrofotômetro².

¹ Labtest – Sistemas de Diagnóstico Ltda – Belo Horizonte - MG

4.3.3 Eletroforese

O traçado eletroforético das frações protéicas do soro foi obtido utilizando-se o sistema de eletroforese FEA – 250², conduzido de acordo com o procedimento que se segue. Após o preenchimento da cuba com 80ml de tampão tris, pH 9,5 gelado, aplicou-se no filme de agarose alíquotas de 0,4µL de soro. Em seguida, o filme de agarose foi colocado em suporte apropriado com a extremidade onde foram colocadas as amostras voltadas para o pólo negativo. O cassete foi colocado de modo a apoiar-se na cuba, conectada a uma fonte (100 volts), durante 20 minutos. A seguir, o filme foi mergulhado em 200 mL de corante negro de amido, onde permaneceu por cinco minutos, seguido por mais cinco minutos no descorante. O filme foi colocado em estufa, a 60°C, até que ficasse completamente seco. Em seguida, submetido à nova fase de descoloração com banhos sucessivos de ácido acético a 5%, seguidos de nova secagem a 60°C.

Assim, o eletroforetograma foi obtido, através da migração de frações protéicas pelo gel de agarose (albumina, α , β , γ -globulinas). A leitura do filme foi feita utilizando o *software* SDS-60³ para densitometria por *scanner*.

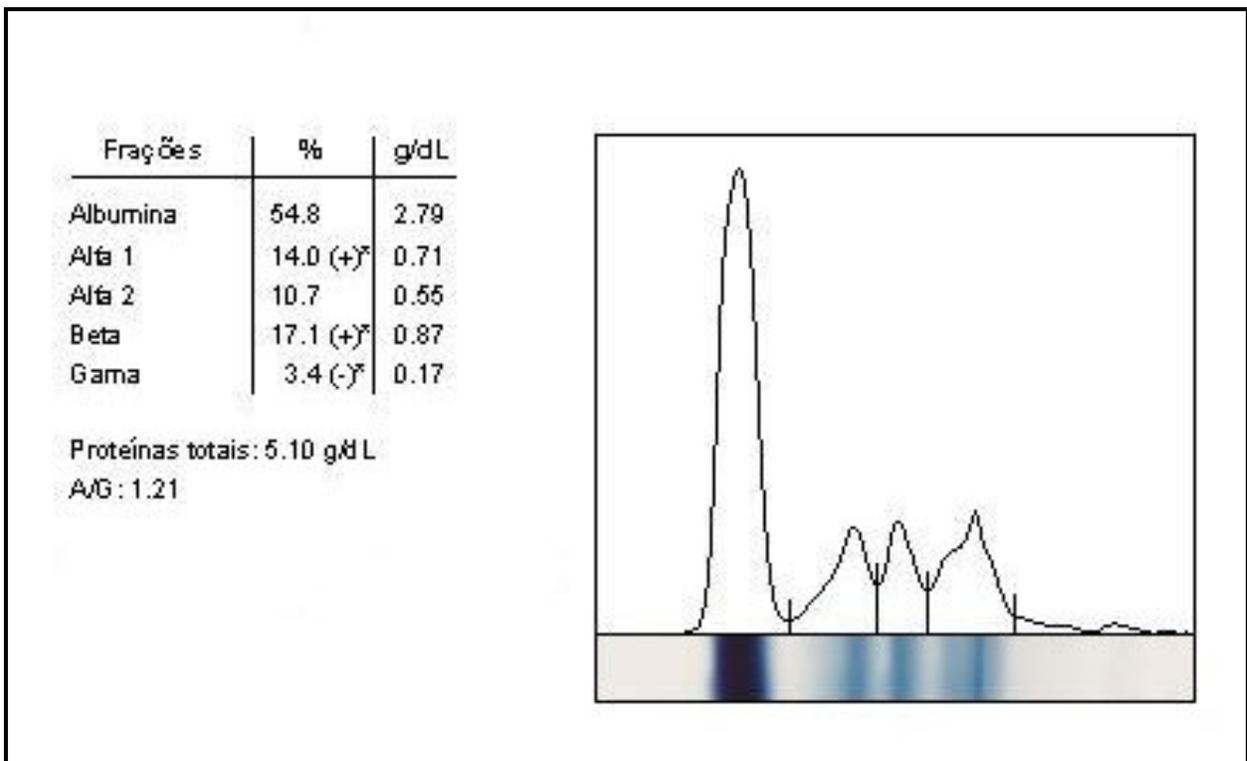
² LABQUEST – Labtest – Sistemas de Diagnóstico Ltda – Belo Horizonte - MG

³CELM – Cia Equipadora de Laboratórios Modernos – Barueri - SP

Figura 2 Fita de agarose contendo o traçado eletroforético de SCU de felinos domésticos ao nascimento. Jaboticabal (SP), 2006.



Figura 3 Exemplo de traçado eletroforético e valores das frações protéicas (albumina, alfa₁, alfa₂, beta₁, e gamaglobulinas) realizado no SCU de felinos domésticos, ao nascimento. Jaboticabal (SP), 2006.



5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos para contagem global de hemácias, leucócitos e plaquetas; contagem diferencial de leucócitos; determinação do hematócrito, da concentração de hemoglobina, VCM, HCM e CHCM; bem como para as proteínas séricas totais e frações protéicas (albumina, alfa, beta e gamaglobulinas) do SCU de gatos, foram analisados pela estatística descritiva básica com o intuito de obtenção dos valores médios e desvios-padrão das variáveis referidas acima (SNEDECOR & COCHRAN, 1989), objetivando o estabelecimento de valores de referência para tais variáveis.

6 RESULTADOS

Os pesos médios e desvios-padrão dos 20 gatos neonatos e das placentas, apresentados na Figura 1, foram $78,65 \pm 9,86$ g e $21,55 \pm 2,61$ g, respectivamente. O volume médio de SCU colhido foi $1105 \pm 313,68$ μL.

Quanto ao eritograma do SCU dos neonatos, os valores médios e desvios-padrão obtidos para contagem de hemácias, concentração de hemoglobina, hematócrito, VCM, HCM e CHCM, expressos na Figura 2, foram $5,57 \pm 1,20 \times 10^6/\mu\text{L}$; $12,98 \pm 2,44$ g/dL; $42,87 \pm 7,99$ %; $77,62 \pm 6,57$ fL, $23,62 \pm 3,38$ g/dL e $30,38 \pm 2,28$ g/dL.

Com relação ao trombograma, o valor médio obtido para contagem de plaquetas e o desvio-padrão foram $131,60 \pm 36,85 \times 10^3/\mu\text{L}$, como observado na Figura 2.

O leucograma, composto pelos valores médios e desvios-padrão relativos e absolutos de basófilos, eosinófilos, neutrófilos bastonetes, neutrófilos segmentados, linfócitos e monócitos estão representados na Figura 3 e são $1,05 \pm 1,63$ %; $60,32 \pm 91,28 \times 10^3/\mu\text{L}$; $3,05 \pm 2,61$ %; $164,71 \pm 139,64 \times 10^3/\mu\text{L}$; $3,15 \pm 2,11$ %; $188,9 \pm 179,68 \times 10^3/\mu\text{L}$; $57,35 \pm 11,63$ %; $3120,4 \pm 1051,3 \times 10^3/\mu\text{L}$; $32,05 \pm 9,65$ %; $1725,1 \pm 663,5 \times 10^3/\mu\text{L}$; $3,35 \pm 2,68$ % e $203,53 \pm 220,49 \times 10^3/\mu\text{L}$, respectivamente.

Os resultados médios relativos e desvios-padrão dos teores séricos de proteínas séricas totais, albumina, α_1 , α_2 , β e γ -globulinas do SCU de gatos estão apresentados

na Figura 4. valores médios e desvios-padrão relativos foram $48,17 \pm 5,29$ %; $13,18 \pm 2,86$ %; $10,13 \pm 2,09$ %; $26,01 \pm 9,26$ % e $2,51 \pm 0,80$ %, respectivamente.

Os valores médios e desvios-padrão absolutos do SCU de felinos domésticos estão representados na Figura 5, sendo que estes foram $4,75 \pm 0,90$ g/dL; $2,29 \pm 0,45$ g/dL; $0,63 \pm 0,16$ g/dL; $0,48 \pm 0,13$ g/dL, $1,18 \pm 0,61$ g/dL e $0,12 \pm 0,04$ g/dL, respectivamente.

Figura 4 – Valores médios e desvios-padrão obtidos para volume do SCU, o peso do recém-nascido, da placenta de gatos domésticos neonatos. Jaboticabal (SP), 2006.

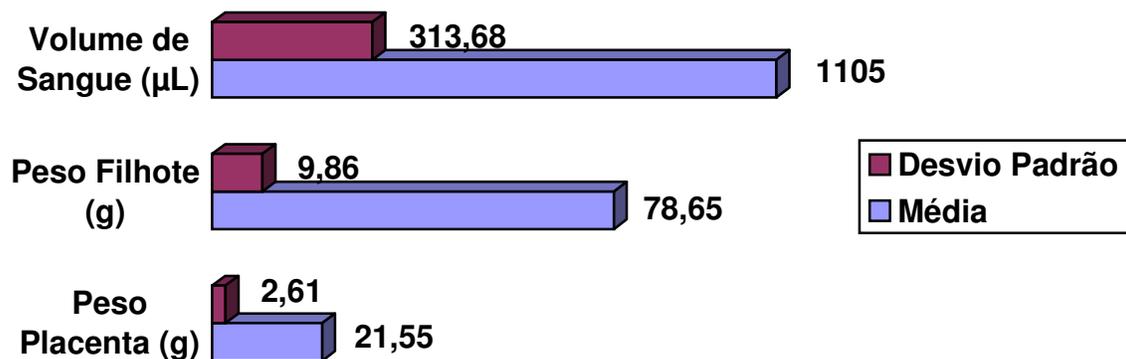


Figura 5 – Valores médios e desvios-padrão obtidos para contagem global de Hemácias (He), concentração de Hemoglobina (Hb), taxa de Hematócrito (Ht), Volume Corpuscular Médio (VCM), Hemoglobina Corpuscular Média (HCM), Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM) e plaquetas do SCU de gatos domésticos neonatos. Jaboticabal (SP), 2006.

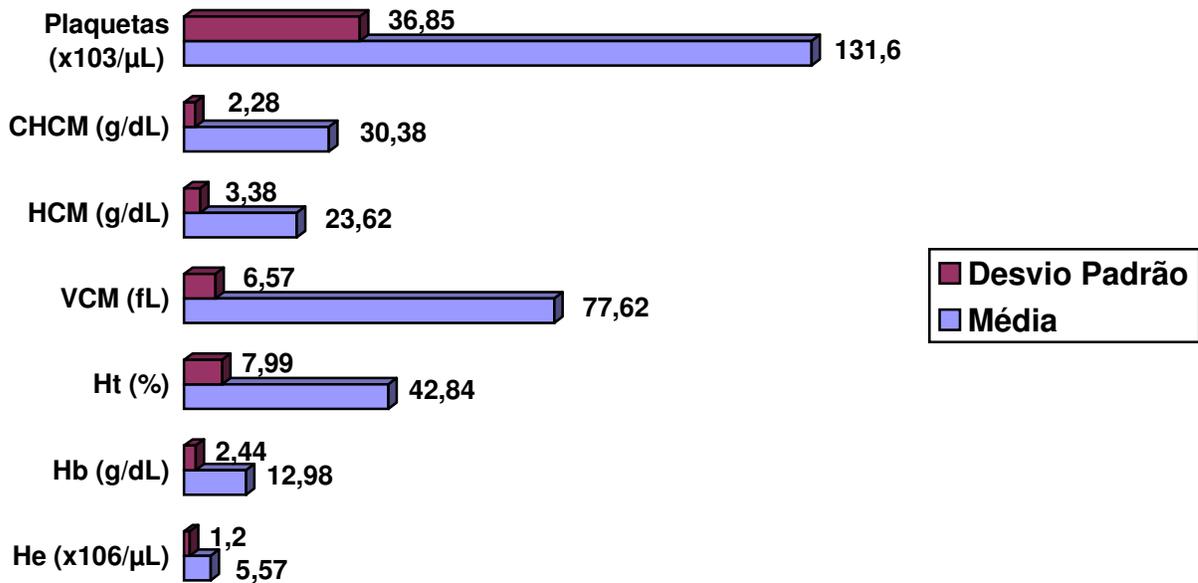


Figura 6– Valores médios e desvios-padrão relativos e absolutos para a contagem de leucócitos (LEU), basófilos (BAS), eosinófilos (EOS), neutrófilos bastonetes (NB), neutrófilos segmentados (NS), linfócitos (LINF) e monócitos (MON) do SCU de gatos domésticos neonatos. Jaboticabal (SP), 2006.

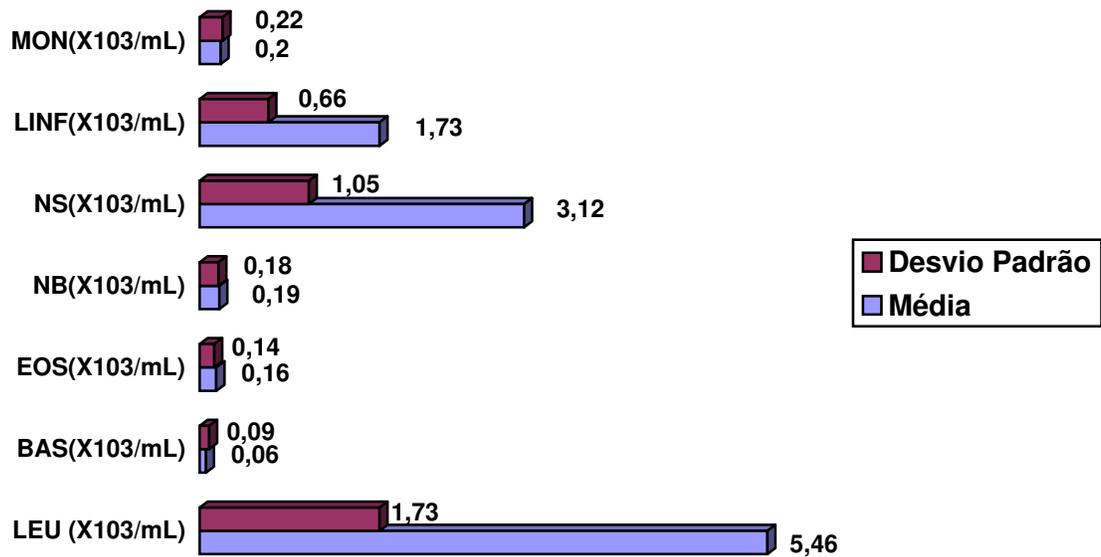


Figura 7 – Valores médios dos teores séricos relativos de proteínas totais (PT), albumina, α_1 , α_2 , β e γ -globulinas no SCU de gatos domésticos neonatos. Jaboticabal (SP), 2006

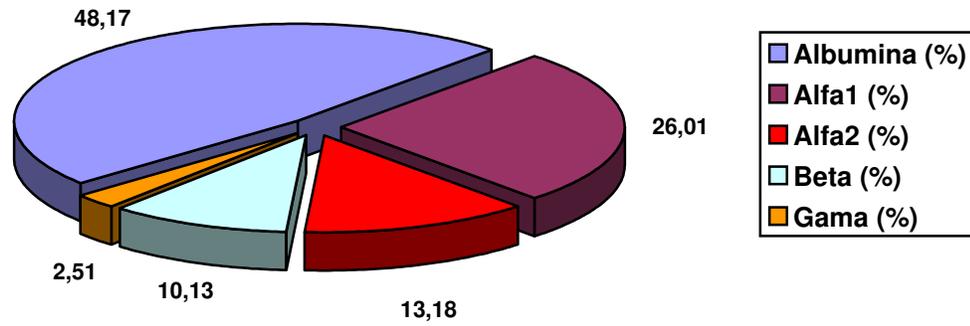
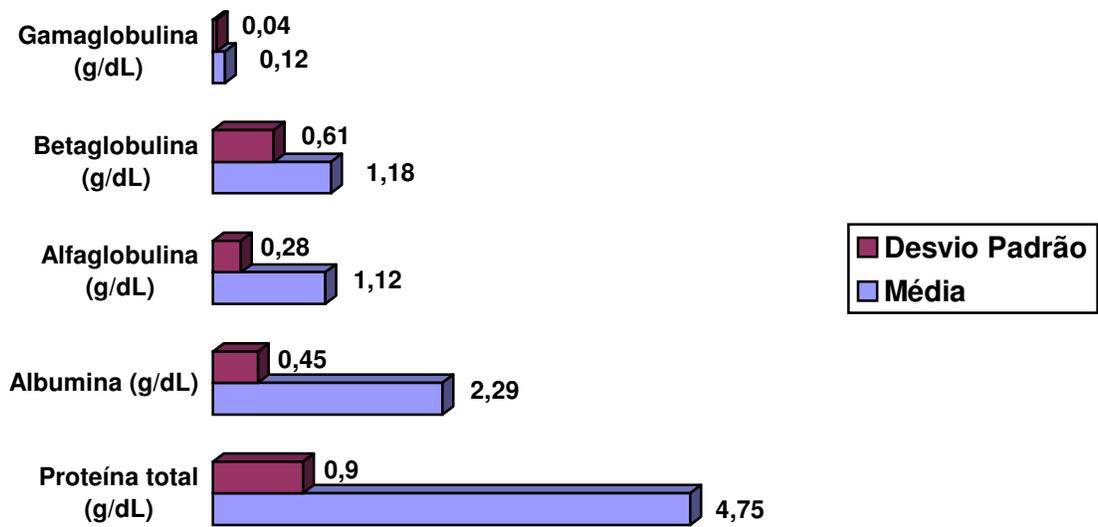


Figura 8 – Valores médios e desvios-padrão dos teores séricos absolutos de proteínas totais (PT), albumina, α_1 , α_2 , β e γ -globulinas no sangue do cordão umbilical de gatos domésticos neonatos. Jaboticabal (SP), 2006.



7 DISCUSSÃO

A colheita do SCU dos felinos foi realizada seguindo protocolo semelhante ao descrito por NAKAGE et al. (2005), em cães. Logo após o nascimento e liberação de envoltórios placentários, o neonato foi colocado em decúbito lateral sobre pano de campo cirúrgico para facilitar a identificação de estruturas do cordão umbilical e placenta. Identificadas as porções justaplacentária e justafetal, foi realizada a hemostasia temporária com pinças Halstad (mosquito) em cada uma destas regiões. Um bisturi de lâmina número 24 foi utilizado para seccionar o cordão em linha média entre os pontos de hemostasia, liberando o neonato para atendimento clínico (principalmente desobstrução de vias aéreas). Após identificação do vaso longitudinal de maior calibre na porção justaplacentária, a venipunção foi realizada com seringa de três mililitros e agulhas descartáveis (25x7), sendo que o material colhido foi distribuído em alíquotas com e sem anticoagulante.

A colheita do sangue foi realizada pela punção dos vasos umbilicais da porção justaplacentária do cordão, pois nesta região os vasos sangüíneos são mais calibrosos e retilíneos do que nas porções justafetal e terço médio do cordão umbilical (AMBROSIO et al., 2000). O SCU dos gatos deste ensaio foi colhido com seringa estéril, devido ao pequeno volume médio obtido ($1105 \pm 313,68 \mu\text{L}$). A técnica de colheita do SCU preconizada em humanos ocorre em bolsas coletoras fechadas e estéreis (SOUSA et al., 1997; ARMITAGE et al., 1999), que acondicionam o volume médio de 71mL de SCU (BALLEN et al., 2001).

As vantagens da colheita do SCU com relação à medula óssea estão relacionadas à ausência de risco ao doador, não requer hospitalização, não necessita de anestesia geral, não causa desconforto, não necessita da colaboração e disponibilidade de grande número de voluntários, além de menor risco de infecções e rejeição (RUBINSTEIN et al., 1993; WAGNER, 1993), essa importância diz respeito principalmente a futuros estudos com imunomarcagem de células tronco no mesmo visando assim o transplantes destas.

As dificuldades encontradas na colheita do SCU relacionaram-se ao rompimento do cordão umbilical, ao nascimento, devido à alta contratilidade uterina, impedindo a coleta do SCU; o tempo escasso de colheita do mesmo, devido à rápida difusão do sangue pelos diversos vasos sangüíneos do cordão umbilical; o instinto materno em proteger o filhote, retirar o envoltório placentário do neonato e morder o cordão umbilical deste, além da espera do nascimento de cada filhote proveniente de parto normal.

Além disso, como as fêmeas estudadas neste ensaio experimental convivem em contato íntimo com o ser humano desde filhotes, normalmente há uma supressão comportamental que leva à necessidade da presença de uma pessoa para auxiliar os neonatos durante o parto. Dentro ainda de problemas comportamentais há também a dificuldade de acesso às gatas no momento do parto. Sendo que a pessoa que vai auxiliar deve ser aceita pela mãe em questão, e deixar com que ela inicie o parto no local por ela escolhido e preparado, que com muita freqüência é um lugar pequeno e escuro o que passa para ela sensação de segurança para a ninhada. Apesar das dificuldades durante a colheita, a metodologia aplicada permitiu a quantificação das células eritroleucocitárias, plaquetárias e das proteínas do SCU de gatos domésticos.

Segundo SCHWARZE et al. (1970) o cordão umbilical de felinos domésticos corresponde a um terço do comprimento do feto. No entanto, durante a execução prática do protocolo experimental, foram observados que alguns neonatos apresentaram cordão umbilical com proporções consideravelmente inferiores a essas.

Os objetivos secundários deste experimento, tais como a determinação de peso dos neonatos, placenta e volume sangüíneo total colhido do cordão umbilical, fundamentaram-se na necessidade de fornecer subsídios para elaboração de um estudo futuro sobre a correlação entre peso de neonato, placenta e volume sangüíneo colhido. Esta análise, quando comparada com os resultados obtidos por NAKAGE et al. (2002) na espécie canina permitirá verificar se existe alguma diferença significativa entre a quantidade de material colhido entre as espécies.

A análise do SCU de gatos domésticos no contador automático de células foi adequada para realização do hemograma deste, assim como descrito em humanos (CHASIRIPOOMKERE et al., 1999) e cães (NAKAGE et al., 2005). A contagem global

de He ($5,57 \pm 1,2 \times 10^6/\mu\text{L}$), concentração de Hb ($12,98 \pm 2,44 \text{ g/dL}$) e taxa de Ht ($42,84 \pm 7,99 \%$) dos felinos apresentaram-se semelhantes aos valores de sangue periférico de gatos de zero a duas semanas ($5,29 \pm 0,24 \times 10^6/\mu\text{L}$, $12,1 \pm 0,6 \text{ g/dL}$ e $35,3 \pm 1,7 \%$) e adultos ($5,5$ a $8,5 \times 10^6/\mu\text{L}$, 8 a 14 g/dL e 24 a 45%). O valor de CHCM do SCU de gatos domésticos ($30,38 \pm 2,28 \text{ g/dL}$) encontrado foi menor do que o relatado para gatos de zero a duas semanas ($34,5 \pm 0,8 \text{ g/dL}$) e gatos adultos (31 a 35 g/dL), enquanto o valor de VCM do SCU de gatos ($77,62 \pm 6,57 \text{ fL}$) foi mais elevado do que aquele de gatos de zero a duas semanas ($67,4 \pm 1,9 \text{ fL}$) e adultos (39 a 55 fL), relatados por MEYERS et al. (1984) e CLINKENBEARD & MEINKOTH (2000).

O eritrograma indica que o SCU de gatos neonatos apresenta quantidade normal de hemácias, concentração de hemoglobina e hematócrito, além da presença de hemácias jovens macrocíticas (VCM elevado) hipocrômicas (CHCM reduzido), indicando atividade eritropoética elevada, necessária à manutenção da volemia devido à expansão do volume plasmático durante os dois primeiros meses de vida dos gatos (MEYERS et al., 1984; CLINKENBEARD & MEINKOTH, 2000).

As contagens de plaquetas obtidas para o SCU de gatos ($131,6 \pm 36,85 \times 10^3/\mu\text{L}$) foram inferiores àquelas consideradas como fisiológicas no sangue periférico de gatos adultos (200 a $600 \times 10^3/\mu\text{L}$), reportadas por MEYERS et al. (1984).

Os valores globais de leucócitos de SCU de felinos domésticos foram inferiores aos valores relatados para felinos adultos e de zero a duas semanas de vida, segundo MEYERS et al. (1984), CLINKENBEARD & MEINKOTH (2000).

Os valores hematológicos do SCU, exceto o VCM, apresentaram-se semelhantes ou relativamente reduzidos com relação àqueles de gatos recém-nascidos e adultos.

Pelo significado biológico e múltiplas funções exercidas no sistema orgânico, a avaliação dos níveis séricos das proteínas totais e de suas frações (albumina, alfa globulinas, beta globulinas e gama globulinas), obtidas por eletroforese, representa um importante auxílio ao diagnóstico clínico (KANEKO et al., 1997).

No presente experimento, os valores médios absolutos obtidos para proteínas séricas totais, albumina, alfa, beta e gama globulinas no SCU de gatos, ao nascimento,

apresentaram-se abaixo dos níveis relatados em animais adultos (DOXEY & KEAY, 1982), dado este que corrobora os achados de BAKER & VALLI (1986).

Este valor reduzido de proteína sérica total deve-se principalmente à pequena quantidade de gamaglobulinas encontrada no sangue de gatos ao nascimento, antes da ingestão do colostro. Nos carnívoros domésticos, embora haja uma pequena passagem de IgG através da placenta, a maior parte é adquirida com a ingestão do colostro. A passagem transplacentária ocorre devido à placentação endoteliocorial dos gatos, na qual o epitélio coriônico fica em contato com o endotélio dos capilares maternos (TIZARD, 1998). Os valores encontrados neste ensaio confirmam os relatos de OKOSHI et al. (1967), BUTLER (1969) e FELDMAN et al. (2000), que referem a existência de baixos teores seroprotéicos nos animais domésticos ao nascimento.

Na avaliação do sangue periférico de gatos em diferentes faixas etárias, entre a fase neonatal a jovens, OKOSHI et al. (1967) relataram quantidades reduzidas de albumina, alfa e betaglobulinas e ausência de gamaglobulinas em comparação àquelas encontradas em gatos adultos. Os valores encontrados no presente estudo com exceção de traços de gamaglobulinas, corroboram esta afirmação.

Grandes diferenças, principalmente nos valores de beta e gamaglobulinas, foram encontradas neste protocolo experimental quando comparado com valores de referência para animais adultos, tal discrepância pode ser explicada pelo fato de que valores relativos menores de beta e gamaglobulinas ocorrem devido às regiões β_2 , γ_1 e γ_2 serem compostas principalmente por imunoglobulinas, como observado por KANEKO et al. (1997), e estas terem sua principal passagem através do colostro, na espécie em questão.

Assim como verificado por GODOY (2003) em SCU de eqüinos e asininos e GODOY et al. (2006) em SCU de cães, quando se observa os valores relativos, a eletroforese das proteínas séricas do SCU de felinos, estes apresentam redistribuição das frações de albumina, alfa e betaglobulina devido à deficiência ou ausência da fração gama no SCU das referidas espécies.

As gamaglobulinas estão ausentes em SCU de eqüinos e asininos (GODOY, 2003) e, discretamente presentes em SCU de cães (GODOY et al., 2006), e de gatos,

como observado neste protocolo. Tal diferença está relacionada aos diferentes tipos de placentação entre as espécies, que permitem ou não a passagem de imunoglobulinas através da circulação placentária.

8 CONCLUSÕES

O método aplicado para colheita de SCU de gatos domésticos ao nascimento, apesar do volume escasso deste ($1105 \pm 313,68 \mu\text{L}$), permitiu a quantificação das células sangüíneas e determinação das proteínas séricas totais e suas frações alfa, beta e gamaglobulinas do referido cordão.

Os valores hematológicos do SCU, exceto o VCM, apresentaram-se semelhantes ou relativamente reduzidos com relação àqueles de gatos recém-nascidos e adultos.

Os valores médios absolutos obtidos para proteínas séricas totais, albumina, alfa, beta e gamaglobulinas no sangue do cordão umbilical de gatos ao nascimento foram 4.75 ± 0.90 , $2,29 \pm 0.45$, 1.12 ± 0.28 , 1.18 ± 0.61 e $0.12 \pm 0.04 \text{g/dL}$, respectivamente.

9 REFERÊNCIAS⁴

AMBROSIO, C.E. et al. Estudo anatômico das artérias e veias do funículo umbilical, sua ramificação e disposição na placenta de gatos (*Felis catus*, Linnaeus, 1758). **Brazilian Journal of Research and Animal Science**, São Paulo, v. 37, p 00-00, n. 5, 2000.

ARMITAGE, S. et al. Cord blood banking: volume reduction of cord blood units using a semi-automated closed system. **Bone Marrow Transplantation**, Basingstoke, v. 23, n. 5, p. 505-509, 1999.

AUFDERHAAR, U. et al. The impact of intrapartum factors on umbilical cord blood stem cell banking. **Journal of Perinatal Medicine**, Berlin, v. 31, n. 4, p. 317-322, 2003.

AUSTIN, T.W.; LAGASSE, E. Hepatic regeneration from hematopoietic stem cells. **Mechanisms of Development**, Limerick, v. 120, n. 1, p. 131-135, 2003.

BADIAVAS, E.V. et al. Participation of bone marrow derived cells in cutaneous wound healing. **Journal of Cellular Physiology**, Philadelphia, v. 196, n. 2, p. 245-250, 2003.

BAKER, R.J.; VALLI, E.O.V. A review of feline serum protein electrophoresis. **Veterinary Clinical Pathology**, Santa Barbara, v. 15, n. 4, p. 20-25, 1986.

BALLEN, K.K et al. Bigger is better: maternal and neonatal predictors of hematopoietic potential of umbilical cord blood units. **Bone Marrow Transplantation**, Basingstoke, v. 27, n. 1, p. 7-14, 2001.

⁴ ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR-6023**: Informação e documentação, referências, elaboração. Rio de Janeiro, 2002. 24p.

BIRGEL JUNIOR, J. H. et al. Reference values of the erythrogram of Jersey breed, raised in São Paulo state. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 53, n. 2, p. 1 - 9, 2001.

BROXMEYER, H.E. et al. Umbilical cord hematopoietic stem and repopulating cells in human clinical transplantation. **Blood Cells**, Belfast, v. 17, n. 2, p. 313-329, 1991.

BUTLER, J. E. Bovine Immunoglobulins: A review. **Journal Dairy Science**, Champaing, v. 52, n. 12, p. 1895-1909, 1969.

CAPUA, M. L. B. et al. Avaliação hematológica e quantificação de subpopulações linfocitárias no sangue do cordão umbilical de cães. In: Congresso Paulista de Clínicos Veterinários de Pequenos Animais (CONPAVEPA), 5., São Paulo, SP, **Anais...** São Paulo: Associação Paulista de Clínicos de Pequenos Animais, 2005. 1CD.

CHASIRIPOOMKERE, W. et al. Study of hematopoietic progenitor cells, hematological values and lymphocyte subsets in cord blood: application for cord blood transplantation. **The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health**, Bangkok, v. 30, n. 4, p.781-785, 1999.

CHRISTENSEN, R.D. Hematopoiesis in the fetus and neonate. **Pediatric Research**, Baltimore, v. 26, n. 6, p. 531-535, 1989.

CLINKENBEARD, K. D.; MEINKOTH, J. H. Normal Hematology of the Cat. In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's veterinary hematology**. Philadelphia: Williams & Wilkins, 2000. cap. 164, p. 1064-1068.

CRISSIUMA, A. L. et al. Avaliação dos efeitos do propofol associado à anestesia peridural sob cães recém-nascidos de cesarianas eletivas. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, Niterói, v. 9, n.1, p. 316-318, 2002.

CRISSIUMA, A. L. Análise hemogasométrica venosa de cães nascidos de cesarianas eletivas no período de transição fetal-neonatal. Niterói, 2003. 89p. **Dissertação** – Universidade Federal Fluminense, Niteroi, 2003.

CRISSIUMA, A. L. et al. Aspectos cardiorrespiratórios e ácidos-básicos do período de transição fetal-neonatal em cães. **Clínica Veterinária**, São Paulo, v. 4, n. 57, p.36-46, 2005.

DOXEY, D.L.; KEAY, G. Species characteristics of serum proteins demonstrated after agarose gel electrophoresis. **Veterinary Research Communications**, Amsterdam, v. 3, n.5, p.263-270, 1981/1982.

ECKERSALL, P.D. Recent advances and future prospects for the use of acute phase proteins as markers of disease in animals. **Revue de Médecine Vétérinaire**, Toulouse, v. 151, p. 577-584, 2000.

ENGLAND, G. Pregnancy diagnosis, abnormalities of pregnancy and pregnancy termination. In: SIMPSON, G. M.; ENGLAND, G. C. W.; HARVEY, M. **Manual of small animal reproduction and neonatology**. United Kingdom: BSAVA, 1998. 235p. p.113-125.

FAGLIARI, J.J. et al. Proteinograma total e fracionamento eletroforético do soro de bezerros Guzerá passivamente imunizados contra paratifo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 35, n. 3, p. 317-332, 1983.

FAGLIARI, J.J.; OKUDA, H.T.; PASSIPIERI, M. et al. Serum protein levels of guzera cattle in different ages. **Arquivos Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 43, p. 39-60, 1991.

FEITOSA, M. M.; CIARLINI, L. D. R. P. Exame neurológico de cães neonatos. **Cães e Gatos**, Porto Feliz, v. 15, n. 89, p. 20-26, 2000.

FELDMAN, B. C.; ZINKIL, J. G.; JAIN, M. C. **Veterinary hematology**. 5. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. 1344p.

FULLER, T.K.; KERR, K.D.; KARNS, P.D. Hematology and serum chemistry of bobcats in northcentral Minnesota. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 21, n. 1, p. 29-32, 1985.

GLUCKMAN, E. et al. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconís anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. **New England Journal of Medicine**, Waltham, v. 321, n. 17, p. 1174-1178, 1989.

GODOY, A.V. et al. Perfil eletroforético de proteínas séricas do sangue do cordão umbilical de cães. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.2, p.531-535, 2006.

GODOY, R.F. **Estudo hematológico e proteinograma do sangue do funículo umbilical de eqüídeos neonatos**. 2003, f.64. Dissertação (Mestrado em Cirurgia Veterinária)- Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

GOLDE, D.W.; TAKATU, F. (Ed): **Hematopoietic stem cells**. New York, Marcel Dekker, 1985.

GORDON, J.N. **Electrophoresis of proteins in polyacrylamide and starch gels**. New York, 1995, p 213.

GUSSONI, E. et al. Long-term persistence of donor nuclei in a Duchenne muscular dystrophy patient receiving bone marrow transplantation. **Journal of Clinical Investigation**, New York, v. 110, n. 6, p. 807-814, 2002.

HARRIS, D.T. et al. Collection, separation and cryopreservation of umbilical cord blood for use in transplantation. **Bone Marrow Transplantation**, Basingstoke, v. 13, n. 2, p. 135-143, 1994.

HUSBAND, A. J.; BRANDON, M. R.; LASCELLES, A. K. Absorption and endogenous production of immunoglobulins in calves. **Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science**, Adelaide, v. 50, n. 4, p. 491-498, 1972.

IANUS, A. et al. *In vivo* derivation of glucose-competent pancreatic endocrine cells from bone marrow without evidence of cell fusion. **Journal of Clinical Investigation**, New York, v. 111, n. 6, p. 843-850, 2003.

JAIN, N.C. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993, p. 349-380,

JIN, H.K. et al. Intracerebral transplantation of mesenchymal stem cells into acid sphingomyelinase-deficient mice delays the onset of neurological abnormalities and extends their life span. **Journal of Clinical Investigation**, New York, v. 109, n. 9, p. 1183-1191, 2002.

KALE, S. et al. Bone marrow stem cells contribute to repair of the ischemically injured renal tubule. **Journal of Clinical Investigation**, New York, v. 112, n. 1, p. 42-49, 2003.

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5ed. New York: Academic Press, 1997, p. 932.

KEAY, G.; DOXEY, D.L. Species characteristics of serum proteins demonstrated after agarose gel electrophoresis. **Veterinary Research Communications**, Amsterdam, v. 5, n. 3, p. 263-270, 1982.

LASKY, L.C. et al. In utero or ex utero cord blood collection: which is better? **Transfusion**, Malden, v. 42, n. 10, p. 1261-1267, 2002.

LATIMER, K. S. Leukocytes in health and disease. *In* Ettinger S.J. (ed): **Textbook of veterinary internal medicine: diseases of the dog and cat**. 4rd ed. Philadelphia, **WB Saunders**, 1997, p. 2616- 2666.

LEE, G.R. et al. (Ed): **Wintrobe's clinical hematology**. 9th ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993.

LIPSCHITZ, D. A. et al. Effect of age on hematopoiesis in man. **Blood**, New York, v. 63, n. 3, p. 502, 1984.

MARCO, I. et al. Hematologic and serum chemistry values of the captive European wildcat. **Journal of Wildlife Diseases**, Laurence, v. 36, n. 3, p. 445-449, 2000.

MATTEWS, A. G. Serum protein electrophoresis in horses and ponies. **Equine Veterinary Journal**, London, v. 14, n. 4, p. 322-324, 1982.

MEYERS, V. N. Hematologic values in healthy neonatal, weanling, and juvenile kittens. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v. 45, n. 7, 1984.

MILLER, D. L. et al. Blood parameters of clinically normal captive bobcats (*Felis rufus*). **Journal of zoo and wildlife medicine: official publication of the American Association of Zoo Veterinarians**. Florida, v. 30, n. 2, p. 242-247, 1999.

NAKAGE, A. P. M. et al. Determinação do volume corpuscular médio (VCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e porcentagem de reticulócitos no sangue do cordão umbilical de cães neonatos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 29., 2002, Gramado: **Anais...** 2002.1 CD Rom.

NAKAGE, A. P. M. et al. Estudo das células sangüíneas do cordão umbilical de cães. In: Congresso Brasileiro de Clínicos Veterinários de Pequenos Animais (Anclivepa), 24., Belo Horizonte, MG, **Anais...** Belo Horizonte: Associação Nacional de Clínicos Veterinários de Pequenos Animais, 2003. 1CD Rom.

NAKAGE, A. P. M. et al. Células-tronco no cordão umbilical de cães. In: Congresso Brasileiro de Clínicos Veterinários de Pequenos Animais (Anclivepa), 25., Gramado, RS, **Anais...** Gramado: Associação Nacional de Clínicos Veterinários de Pequenos Animais, 2004. 1CD Rom.

NAKAGE, A.P.M. et al. Characterization and quantification of blood cells from the umbilical cord of dogs. **Veterinary Clinical Pathology**, Santa Barbara, v.34, n.4, p.394-396, 2005.

NIKISCHIN, W. et al. The influence of mode of delivery on hematologic values in the umbilical vein. **Gynecologic and Obstetric Investigation**, Basel, v. 43, n. 2, p. 104-107, 1997.

O'BRIEN, M.; MURPHY, M. G.; LOWE, J. Hematology and clinical chemistry parameters in the cat (*Felis domesticus*). **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 128, n. 12, p. 2678S-2679S, 1998.

OKAMOTO, R. et al. Damaged epithelia regenerated by bone marrow-derived cells in the human gastrointestinal tract. **Nature Medicine**, New York, v. 8, n. 9, p. 1011-1017, 2002.

OKOSHI, S. et al. Analysis of Normal Cat Serum by Immunoelectrophoresis, **Japanese Journal of Veterinary Science**, v. 6, n. 29, p. 337-345, 1967.

PAFUMI, C. et al. Influence of the kind of delivery on umbilical cord blood collection. **Haematologia**, Budapest, v. 31, n. 4, p. 341-345, 2002.

RICE, H.E. et al. Human fetal liver hematopoietic cell expansion with a novel bioreactor system. **Transplantation Proceedings**, Orlando, v. 26, n. 6, p. 3338-3339, 1994.

RUBINSTEIN, P. et al. Stored placental blood for unrelated bone marrow reconstitution. **Blood**, New York, v. 81, n. 7, p. 1679-1690, 1993.

RUBINSTEIN, P. et al. Processing and cryopreservation of placental/umbilical cord blood for unrelated bone marrow reconstitution. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, New York, v. 92, n. 22, p. 10119-10122, 1995.

SCHADER, J.W. Bone marrow differentiation in vitro. **CRC Critical Reviews in Immunology**, Boca Raton, 4, p. 196, 1984.

SCHWARZE, E.; SCHÖDER, L.; MICHEL, G. **Compendio de anatomia veterinária: VI - embriologia**. Zaragoza: Acribia, 1970. 350p.

SHNIDER, S.; LEVINSON, G. Anestesia para cesariana. In: **Anestesia para obstetrícia**. 3 ed. São Paulo: Manole, 1995. p. 217-252.

SIMÕES, J. C. **Fisiologia da reprodução dos ungulados domésticos**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1984. 623p.

SNEDECOR, G. W.; COCHRAN, W. G. **Statistical methods**. Ames: Iowa State University Press, 1989. 503 p.

SOLVES, P. et al. Comparison between two strategies for umbilical cord blood collection. **Bone Marrow Transplantation**, Basingstoke, v. 31, n. 4, p. 269-273, 2003.

SOUSA, T. et al. Umbilical cord blood processing: volume reduction and recovery of CD34⁺ cells. **Bone Marrow Transplantation**, Basingstoke, v. 19, n. 4, p. 311-313, 1997.

SPARROW, R.L. et al. Influence of mode of birth and collection on WBC yields of umbilical cord blood units. **Transfusion**, Malden, v. 42, n. 2, p. 210-215, 2002.

SURBEK, D.V. et al. Umbilical cord blood collection before placental delivery during cesarean delivery increase cord blood volume and nucleated cell number available for transplantation. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, Saint Louis, v. 183, n. 1, p. 218-221, 2000.

TENNANT, B.; GUERRA, M.R. Neonatal alterations in serum gammaglobulin levels of Jersey and Holstein-Friesian calves. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v. 51, n. 2, p. 345-354, 1969.

THEISE, N. et al. Radiation pneumonitis in mice: a severe injury model for pneumocyte engraftment from bone marrow. **Experimental Hematology**, Amsterdam, v. 30, n. 11, p. 1333-1338, 2002.

TIZARD, I.R. **Imunologia Veterinária**: uma introdução. 5. ed., São Paulo, 1998, cap 19, p. 244-258.

TSE, H.F. et al. Angiogenesis in ischaemic myocardium by intramyocardial autologous bone marrow mononuclear cell implantation. **Lancet**, London, v. 361, n. 9351, p. 47-49, 2003.

VILMER, E. et al. HLA-mismatched cord blood transplantation in a patient with advanced leukemia. **Transplantation**, Paris, v. 53, n. 5, p.1155-1157, 1992.

WAGNER, J.E. et al. Transplantation of umbilical cord blood after mieloblative therapy: analysis of engraftment. **Blood**, New York, v. 79, n. 7, p. 1874-1881, 1992.

WAGNER, J.E. Umbilical cord blood stem cell transplantation. **The American Journal of Pediatric Hematology/Oncology**, New York, v. 15, n. 2, p. 169-174, 1993.

YAMADA, T. et al. Factors affecting the volume of umbilical cord blood collections. **Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica**, Copenhagen, v. 79, n. 10, p. 830-833, 2000.

APÊNDICES

Valores individuais, valores médios e desvios-padrão obtidos para o peso do recém-nascido, da placenta e volume do SCU de gatos domésticos neonatos. Jaboticabal (SP), 2006.

Animais	Peso Placenta (g)	Peso Filhote (g)	Volume de Sangue (μL)
1	19	76	1500
2	19	66	1000
3	21	81	1200
4	24	95	1000
5	20	64	800
6	21	74	1600
7	30	82	800
8	22	76	600
9	22	83	1300
10	23	92	1500
11	21	82	1200
12	23	90	1000
13	19	78	1500
14	20	100	1200
15	24	80	800
16	22	73	600
17	22	74	1000
18	18	65	800
19	20	72	1500
20	21	70	1200
Média	21,55	78,65	1105,00
Desvio Padrão	2,61	9,86	313,68

Valores individuais, valores médios e desvios-padrão obtidos para contagem global de Hemácias (He), concentração de Hemoglobina (Hb), taxa de Hematócrito (Ht), Volume Corpuscular Médio (VCM), Hemoglobina Corpuscular Média (HCM), Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM) e plaquetas do SCU de gatos domésticos neonatos. Jaboticabal (SP), 2006.

Animais	He (x10⁶/μL)	Hb (g/dL)	Ht (%)	VCM (fL)	HCM (g/dL)	CHCM (g/dL)	Plaquetas (x10³/μL)
1	6,38	13,90	48,3	75,8	21,8	28,8	158
2	4,00	9,40	31,0	77,3	23,5	30,3	94
3	3,99	9,20	30,9	77,5	23,1	29,7	102
4	6,57	13,50	47,7	72,6	20,5	28,4	131
5	6,14	13,70	47,0	76,4	22,3	29,2	97
6	5,73	11,80	39,7	69,3	20,6	29,8	120
7	7,05	15,20	50,3	71,3	21,6	30,2	180
8	6,23	13,20	43,6	70,1	21,2	30,3	138
9	5,70	15,00	43,2	75,8	26,3	34,7	186
10	7,30	16,00	57,0	78,1	21,9	28,1	192
11	6,04	13,60	44,2	73,2	22,5	30,9	170
12	7,56	16,00	55,0	72,8	21,2	29,1	146
13	5,50	11,60	39,8	72,3	21,1	29,4	68
14	6,32	14,10	48,5	76,8	22,3	29,1	165
15	4,95	11,30	39,3	79,4	22,8	28,8	73
16	3,56	7,80	27,3	76,7	21,9	28,7	87
17	3,60	10,90	32,0	88,9	30,3	34,1	120
18	4,40	11,70	40,0	90,9	26,6	29,3	130
19	5,10	16,43	45,0	88,2	32,2	36,5	135
20	5,28	15,20	47,0	89,0	28,8	32,3	140
Média	5,57	12,98	42,84	77,62	23,62	30,38	131,60
Desvio Padrão	1,20	2,44	7,99	6,57	3,38	2,28	36,85

Valores individuais, médios e desvios-padrão relativos e absolutos para a contagem de leucócitos (LEU), basófilos (BAS), eosinófilos (EOS), neutrófilos bastonetes (NB), neutrófilos segmentados (NS), linfócitos (LINF) e monócitos (MON) do SCU de gatos domésticos neonatos. Jaboticabal (SP), 2006.

Animais	LEU		BAS		EOS		NB		NS		LINF		MON	
	(X10 ³ /mL)	%	(X10 ³ /mL)	%	(X10 ³ /mL)	%	(X10 ³ /mL)	%						
1	6,80	0	0,00	2	0,14	6	0,41	49	3,33	40	2,72	3	0,20	
2	7,40	0	0,00	1	0,07	3	0,22	66	4,88	27	2,00	3	0,22	
3	6,00	0	0,00	2	0,12	3	0,18	69	4,14	25	1,50	1	0,06	
4	5,00	0	0,00	2	0,10	2	0,10	67	3,35	27	1,35	2	0,10	
5	4,00	0	0,00	1	0,04	2	0,08	70	2,80	26	1,04	1	0,04	
6	6,10	0	0,00	1	0,06	2	0,12	72	4,39	23	1,40	2	0,12	
7	4,60	2	0,09	12	0,55	0	0,00	48	2,21	38	1,75	0	0,00	
8	4,46	0	0,00	6	0,27	0	0,00	71	3,17	22	0,98	1	0,04	
9	5,05	0	0,00	3	0,15	1	0,05	67	3,38	27	1,36	2	0,10	
10	4,45	1	0,04	2	0,09	3	0,13	65	2,89	25	1,11	4	0,18	
11	7,60	3	0,23	3	0,23	7	0,53	42	3,19	39	2,96	6	0,46	
12	10,4	2	0,21	4	0,42	7	0,73	51	5,30	27	2,81	9	0,94	
13	7,40	2	0,15	5	0,37	2	0,15	46	3,40	39	2,89	6	0,44	
14	3,80	0	0,00	2	0,08	6	0,23	35	1,33	55	2,09	2	0,08	
15	4,10	0	0,00	2	0,08	3	0,12	41	1,68	52	2,13	2	0,08	
16	3,70	0	0,00	2	0,07	1	0,04	56	2,07	40	1,48	1	0,04	
17	3,70	5	0,19	5	0,19	3	0,11	47	1,74	34	1,26	6	0,22	
18	4,10	1	0,04	4	0,16	5	0,21	56	2,30	26	1,07	8	0,33	
19	5,40	0	0,00	2	0,11	3	0,16	67	3,62	27	1,46	1	0,05	
20	5,20	5	0,26	0	0,00	4	0,21	62	3,22	22	1,14	7	0,36	
Média	5,46	1,05	0,06	3,05	0,16	3,15	0,19	57,35	3,12	32,05	1,73	3,35	0,20	
Desvio Padrão	1,73	1,64	0,09	2,61	0,14	2,11	0,18	11,63	1,05	9,65	0,66	2,68	0,22	

Valores individuais relativos e absolutos, médios e desvios-padrão dos teores séricos de proteínas totais (PT), albumina, α_1 , α_2 , β e γ -globulinas no sangue do cordão umbilical de gatos domésticos neonatos. Jaboticabal (SP), 2006.

Animais	PT		Albumina		Alfa ₁		Alfa ₂		Beta		Gama	
	(g/dL)	%	(g/dL)	%	(g/dL)	%	(g/dL)	%	(g/dL)	%	(g/dL)	%
1	2,06	38,0	0,78	3,6	0,07	7,8	0,16	47,4	0,98	3,2	0,07	
2	5,52	49,6	2,74	12,1	0,67	11,2	0,62	24,7	1,36	2,4	0,13	
3	4,45	50,8	2,26	14,1	0,63	13,1	0,58	20,1	0,89	1,9	0,08	
4	5,14	48,6	2,50	14,8	0,76	11,6	0,60	22,5	1,16	2,5	0,13	
5	4,05	44,6	1,81	13,5	0,55	8,9	0,36	30,4	1,23	2,6	0,11	
6	5,05	49,3	2,49	14,8	0,75	10,2	0,52	22,8	1,15	2,9	0,15	
7	5,43	48,3	2,62	16,5	0,90	14,6	0,79	17,6	0,96	3,0	0,16	
8	4,22	54,7	2,31	15,2	0,64	12,2	0,51	15,0	0,63	2,9	0,12	
9	5,05	46,0	2,32	14,9	0,75	10,6	0,54	25,2	1,27	3,3	0,17	
10	4,45	48,2	2,14	14,0	0,62	10,0	0,44	24,8	0,10	3,0	0,13	
11	6,77	33,6	2,27	8,4	0,57	5,8	0,39	49,2	3,33	3,0	0,20	
12	4,78	49,9	2,39	14,8	0,71	10,1	0,48	23,7	1,13	1,5	0,07	
13	4,05	49,7	2,01	13,8	0,56	9,4	0,38	23,6	0,96	3,5	0,14	
14	5,10	54,8	2,79	14,0	0,71	10,7	0,55	17,1	0,87	3,4	0,17	
15	5,43	55,3	3,00	14,5	0,79	10,6	0,58	16,9	0,92	2,7	0,15	
16	4,23	53,2	2,25	15,0	0,63	12,5	0,53	16,2	0,69	3,1	0,13	
17	5,00	50,7	2,54	11,0	0,55	7,6	0,38	29,9	1,50	0,8	0,04	
18	4,40	46,2	2,03	13,2	0,58	8,4	0,37	31,2	1,37	1,0	0,04	
19	4,70	45,6	2,14	13,4	0,63	8,3	0,39	30,6	1,44	2,1	0,10	
20	5,10	46,3	2,36	12,0	0,62	8,9	0,45	31,3	1,60	1,4	0,07	
Média	4,75	48,2	2,29	13,2	0,63	10,1	0,48	26,0	1,18	2,5	0,12	
Desvio Padrão	0,90	6,8	0,45	2,8	0,16	2,1	0,13	9,2	0,61	0,8	0,04	

Valores médios absolutos e relativos, dos teores séricos de proteínas totais, albumina, α , β e γ -globulinas no sangue do cordão umbilical de gatos, ao nascimento. Jaboticabal (SP), 2006.

	Valores médios absolutos \pm desvios-padrão (g/dL)	Valores relativos (%)
Proteína total	4,75 \pm 0,90	100
Albumina	2,29 \pm 0,45	48,17
Alfaglobulina	1,12 \pm 0,28	23,31
Betaglobulina	1,18 \pm 0,61	26,01
Gamaglobulina	0,12 \pm 0,04	2,51

Jaboticabal, 25 de julho de 2006.

Aline Vieira Godoy
Pós-graduanda

Prof. Dr. Aureo Evangelista Santana
orientador

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)