

UFSM

Tese de Doutorado

**PERFIL OXIDATIVO, HEMATOLOGIA E INTERAÇÃO
MINERAL EM CORDEIROS SUPLEMENTADOS COM
ALTAS DOSES DE FERRO**

Ricardo Xavier da Rocha

PPGMV

Santa Maria, RS, Brasil

2010

**PERFIL OXIDATIVO, HEMATOLOGIA E INTERAÇÃO
MINERAL EM CORDEIROS SUPLEMENTADOS COM
ALTAS DOSES DE FERRO**

Ricardo Xavier da Rocha

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de concentração em Fisiopatologia da Reprodução, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM-RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Medicina Veterinária.**

Orientador: Marcelo da Silva Cecim

Santa Maria, RS, Brasil

2010

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada
aprova a Tese de Doutorado

**PERFIL OXIDATIVO, HEMATOLOGIA E INTERAÇÃO
MINERAL EM CORDEIROS SUPLEMENTADOS COM
ALTAS DOSES DE FERRO**

elaborado por
Ricardo Xavier da Rocha

como requisito parcial para obtenção do grau de
Doutor em Medicina Veterinária

COMISSÃO EXAMINADORA

Marcelo da Silva Cecim
(Presidente/Orientador)

Márcio Nunes Correa, Dr. (UFPEL)

Luiz Alberto de Oliveira Ribeiro, Dr. (UFRGS)

Ilmo Wentz, Dr. (UFSM)

Sonia Terezinha dos Anjos Lopes, Dr.(a) (UFSM)

Santa Maria, julho de 2010

“Não é porque certas coisas são difíceis que nós não ousamos; é justamente porque não ousamos que tais coisas são difíceis.”

(Sêneca)

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo dom da vida;

À minha família, a base de minha formação pessoal;

À minha noiva, Vanessa, companheira em mais uma etapa, muito obrigado amor;

À colega Andreane Filappi, pelo auxílio nas análises minerais;

À todos os amigos e colegas que tive o prazer de conviver durante o período da pós-graduação, com certeza alguns serão pra sempre;

Ao meu orientador, Prof. Marcelo Cecim, pela oportunidade de realização da pós-graduação. Devo meu crescimento a você. O tenho como um grande amigo;

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria;

À secretária da pós-graduação, Maria, pelo auxílio, sempre que necessário;

À Universidade Federal de Santa Maria, em especial ao Laboratório de Endocrinologia e Metabologia Animal e ao Laboratório de Análises Clínicas, por permitir a utilização da estrutura física;

Ao CNPq pelo suporte financeiro temporário.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1. FERRO E A FORMAÇÃO DO SANGUE.....	15
2.2. ABSORÇÃO DE FERRO E SUA INTERAÇÃO COM OUTROS MICROMINERAIS (ZINCO E COBRE).....	18
2.3. FERRO: DEFICIÊNCIA E ESTOQUE.....	21
2.3.1. Deficiência.....	21
2.3.1.1. Anemia em ovinos.....	22
2.3.2. Toxicidade.....	24
2.3.2.1. O ferro e a geração de radicais livres.....	24
2.3.2.2. Lesão nos locais de estoque.....	29
2.3.2.3. Ferro e leucócitos.....	30
CAPÍTULO 1 - ERITROGRAMA, PERFIL OXIDATIVO E INTERAÇÃO MINERAL EM CORDEIROS RESILIENTES SUPLEMENTADOS COM DIFERENTES FORMAS DE FERRO ORAL.....	32
CAPÍTULO 2 - DESEMPENHO, FUNÇÃO HEPÁTICA E HEMOGRAMA DE CORDEIROS NATURALMENTE INFECTADOS POR HELMINTOS GASTRINTESTINAIS SUPLEMENTADOS COM FERRO ORAL OU PARENTERAL.....	48
CONCLUSÕES.....	63
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	64

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

- TABELA 1 -** Média \pm desvio padrão de Eritrócitos, Hematócrito (Ht), Hemoglobina (Hb), Ferro Sérico (Fe), Cobre plasmático (Cu), Zinco plasmático (Zn) em cordeiros suplementados com ferro oral na forma ferrosa (G2), forma férrica (G3) e grupo controle (GC) em cada momento experimental, Santa Maria, 2010..... 45
- TABELA 2 -** Média \pm desvio padrão de Grupamentos Tióis não protéicos (NPTH), Superóxido Dismutase (SOD) e Espécies Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) em cordeiros suplementados com ferro oral na forma ferrosa (G2), forma férrica (G3) e grupo controle (GC) em cada momento experimental, Santa Maria, 2010..... 46
- TABELA 3 -** Valores de OPG (ovos por grama de fezes) em cordeiros suplementados com ferro oral na forma ferrosa (G2), forma férrica (G3) e grupo controle (GC) em cada momento experimental, Santa Maria, 2010..... 47

CAPÍTULO 2

- TABELA 1 -** Média \pm desvio padrão de Eritrócitos, Hematócrito (Ht), Hemoglobina (Hb), Ferro Sérico (Fe^{+2}), Leucócitos Totais e peso vivo em cordeiros suplementados com ferro oral (G2) ou injetável (G3) e no grupo controle (GC) em cada momento experimental, Santa Maria, 2010..... 60
- TABELA 2 -** Média \pm desvio padrão de Aspartato amino transferase (AST), Gama glutamil transferase (GGT) e albumina em cordeiros suplementados com ferro oral (G2) ou injetável (G3) e no grupo controle (GC) em cada momento experimental, Santa Maria, 2010..... 61
- TABELA 3 -** Valores de OPG (ovos por grama de fezes) em cordeiros suplementados com ferro oral (G2) ou injetável (G3) e no grupo controle (GC) em cada momento experimental, Santa Maria, 2010..... 62

LISTA DE GRÁFICOS

CAPÍTULO 1

- GRÁFICO 1** - Excreção fecal de ferro (1A), zinco e cobre (1B) em cordeiros suplementados com ferro oral na forma ferrosa (G2), forma férrica (G3) e grupo controle (GC) mantidos em gaiola metabólica, Santa Maria, 2010..... 44

CAPÍTULO 2

- GRÁFICO 2** - Níveis hepáticos de ferro em cordeiros suplementados com ferro oral (G2) ou injetável (G3) e no grupo controle (GC) em cada grupo experimental, Santa Maria, 2010..... 59

LISTA DE ABREVIATURAS

TBARS -	Espécies reativas ao ácido tio-barbitúrico
SOD -	Superóxido dismutase
GSH -	Glutationa reduzida
GSHpx -	Glutationa peroxidase
mg -	Miligramas
kg -	Quilogramas
ppm -	Partes por milhão
EROs -	Espécies reativas do oxigênio
NPTH -	Grupamentos tióis não protéicos
OPG -	Ovos por grama
IM -	Intramuscular
CP -	Coated Pits
DMT-1 -	Transportador de metal divalente
DCYTB -	citocromo b duodenal ferro redutase
CDRL -	Compartimento de Desacoplamento do Receptor-Ligante
VCM -	Volume corpuscular médio
CHCM -	Concentração de hemoglobina circulante média
HCM -	Hemoglobina circulante média
Fe -	Ferro
AST -	Aspartato amino transferase
GGT -	Gama glutamil transferase

RESUMO

Tese de Doutorado

Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

PERFIL OXIDATIVO, HEMATOLOGIA E INTERAÇÃO MINERAL EM CORDEIROS SUPLEMENTADOS COM ALTAS DOSES DE FERRO

AUTOR: RICARDO XAVIER DA ROCHA

ORIENTADOR: MARCELO DA SILVA CECIM

Santa Maria, julho de 2010

O objetivo deste estudo foi avaliar a resposta hematológica, lipoperoxidação da membrana do eritrócito, *status* antioxidante e a interação mineral em cordeiros suplementados com ferro. No primeiro estudo avaliaram-se o perfil oxidativo, eritrograma e interação mineral em cordeiros com anemia verminótica. Para isto, utilizou-se 27 cordeiros com anemia verminótica divididos em três grupos; Grupo controle (GC) n= 9, Grupo Sulfato ferroso (G2) n= 9 e Grupo Sulfato férrico (G3) n= 9. Os animais do G2 receberam via oral diariamente 200mg de ferro na forma ferrosa (Fe^{+2}), os animais do G3 receberam via oral diariamente 200mg de ferro na forma férrica (Fe^{+3}), enquanto que o GC não recebeu tratamento. Não houve diferença estatística nos valores de ferro sérico e eritrograma. Valores de cobre e zinco sérico foram inferiores nos G2 e G3 nos dias 21 e 28 do experimento, enquanto que a excreção fecal de cobre, ferro e zinco foram superiores nesses mesmos grupos. Os níveis de SOD foram inferiores nos G2 e G3 no dia 28 enquanto que a mensuração dos NPTH demonstrou diminuição nos dias 21 e 28. Em relação ao TBARS, houve um aumento no dia 28 nos G2 e G3. Conclui-se que a suplementação oral de 200mg de ferro, independente da sua forma, não aumenta a resposta eritrocitária em cordeiros. Bem como, tem ação antagonista sobre cobre e zinco, diminuindo suas concentrações séricas e aumentando a excreção fecal destes minerais. Além disso, pela diminuição das concentrações séricas de cobre e zinco causa uma diminuição da atividade da superóxido dismutase, ocasionando uma situação de estresse oxidativo. Por sua vez, o segundo trabalho avaliou os parâmetros hematológicos, ganho de peso e função hepática em cordeiros anêmicos. Foram utilizados 27 cordeiros com anemia verminótica alocados em três grupos experimentais; Grupo controle (GC) n= 9, Grupo Sulfato ferroso (G2) n= 9 e Grupo Ferro Dextrano (G3) n= 9. Os animais do G2 receberam via oral diariamente 200mg de ferro na forma ferrosa (Fe^{+2}), os animais do G3 receberam duas aplicações de 25mg/kg/p.v. de ferro dextrano IM com intervalo de sete dias, a primeira no dia zero do experimento, enquanto que o GC não recebeu tratamento. Os níveis de ferro sérico no G3 foram superiores quando comparado aos GC e G2 nos dias 7 e 14 ($P<0,05$). Em relação ao eritrograma, o G3 apresentou uma melhora significativa ($P<0,05$) em comparação aos GC e G2 nos dias 7, 14 e 21. Os níveis de ferro hepático no G3 foram superiores em relação aos GC e G2, sem alterar a mensuração de parâmetros de função hepática. Os níveis de OPG e leucócitos não apresentaram diferença estatística entre os grupos. Conclui-se que a administração de duas doses de ferro dextrano eleva as concentrações séricas e hepáticas deste mineral, entretanto sem causar danos a este órgão e, aumenta a eritropoiese, enquanto que a administração oral diária de 200mg não tem influência sobre a série vermelha do sangue bem como sobre níveis séricos e hepáticos deste mineral. Ambos não exercem influência sobre leucócitos.

Palavras-chave: anemia, ovinos, radicais livres, microminerais.

ABSTRACT

Tese de Doutorado

*Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil*

OXIDATIVE PROFILE, HEMATOLOGY AND MINERAL INTERACTION IN LAMBS SUPPLEMENTED WITH HIGH DOSES OF IRON

AUTOR: RICARDO XAVIER DA ROCHA

ORIENTADOR: MARCELO DA SILVA CECIM

Santa Maria, julho de 2010

The aims of this study were to assess the hematological response, erythrocyte membrane lipoperoxidation, antioxidant status and the mineral interaction in lambs supplemented with iron. In the first study, the oxidative profile, erythrogram, and the mineral interaction were assessed in lambs with anemia due to worm infection. For doing it, 27 lambs with anemia due to worm infection were used and they were divided in three groups: Control Group (GC) n=9, Ferrous Sulphate Group (G2) n=9 and Ferric Sulphate Group (G3) n=9. The animals of G2 received 200 mg of iron in the ferrous form (Fe^{+2}) orally daily, the animals of G3 received 200 mg of iron in the ferric form (Fe^{+3}) orally daily, whereas the GC received no treatment. There was no statistic difference in the serum iron values and erythrogram. Serum copper and zinc values were lower in the G2 and G3 on days 21 and 28 of the experiments, whereas faecal copper, iron and zinc excretion were higher in the same groups. The SOD levels were lower in the G2 and G3 on day 28 whereas the NPTH measurement showed a decrease on days 21 and 28. In relation to TBARS, there was an increase. It was concluded that oral supplementation with 200 mg of iron, irrespective of its form does not increase the erythrocyte response in lambs. As well as, it has antagonist action on copper and zinc, reducing its serum concentrations and increasing the faecal excretion of these minerals. Moreover, the decrease of the serum copper and zinc concentrations causes a decrease in activity of superoxide dismutase, causing an oxidative stress situation. In turn, the second experiment assessed the hematological parameters, weight gain and hepatic function in anemic lambs. It was used 27 lambs with anemia due to worm infection divided in three experimental groups: Control Group (GC) n=9, Ferrous Sulphate Group (G2) n=9 and Iron Dextran Group (G3) n=9. The animals of G2 received 200 mg of iron in the ferrous form (Fe^{+2}) orally daily, the animals of G3 received two intramuscular injections of 25 mg/kg/body weight of iron dextran at 7-day interval, the first one on day zero of the experiment, whereas the GC received no treatment. The serum iron levels in the G3 were higher than GC and G2 on days 7 and 14 ($P>0,05$). In relation to erythrogram, the G3 showed a significant improvement ($P>0,05$) compared to GC and G2 on days 7, 14 and 21. The hepatic iron levels in the G3 were higher than GC and G2, without changing the measurement of hepatic function. OPG and leucocytes levels showed no statistic difference among the groups. It was concluded that the administration of two doses of iron dextran increases serum and hepatic concentration of this mineral, however without damage to this organ and increases erythropoiesis whereas daily oral administration of 200 mg has no influence over red blood cell serie, neither serum and hepatic levels of this mineral. Both of them do not influence leucocytes.

Key Words: anemia, sheep, free radicals, microminerals.

1. INTRODUÇÃO

A produção de ovinos ainda é incipiente quando comparada a outras cadeias produtivas, por exemplo, suinocultura, avicultura e bovinocultura de leite e de corte, entretanto, não se pode desconsiderar a sua importância econômica e principalmente social.

Segundos dados da FAO (2009), o consumo *per capita* de carne ovina no Brasil foi 0,65kg/ano em 2008. Isto demonstra que não existe um hábito de consumo deste produto, tendo como principais fatores causadores deste fato, a questão cultural, mas principalmente, a não organização da cadeia produtiva não havendo, desta forma, oferta regular de produtos de origem ovina.

Além do citado acima, a questão sanitária também é responsável pela baixa produtividade dos rebanhos ovinos. Neste caso, se destacam as parasitoses causadas por *Haemonchus contortus*, em função da sua patogenicidade, onde os animais apresentam quadros de anemia, baixo desempenho e diminuição das reservas de ferro corpórea. A anemia é caracterizada clinicamente por decréscimos do número de eritrócitos, da concentração de hemoglobina e do volume globular.

Entre as estratégias de prevenção e combate de algumas deficiências nutricionais incluem o uso da suplementação com minerais em populações de risco. Porém, o metabolismo mineral não pode ser considerado de forma isolada devido a possibilidade de reações de antagonismo entre eles. Nesse sentido, o ferro é utilizado no tratamento da anemia, porém, o seu excesso pode comprometer a absorção e utilização de zinco e cobre, especialmente quando em formulações anti-anêmicas, que utilizam doses altas deste mineral.

Dessa forma, os dois estudos realizados tiveram o objetivo de avaliar a resposta hematológica, o perfil oxidativo, a interação mineral, a função hepática e a ação do ferro em cordeiros naturalmente infectados por helmintos gastrintestinais. Nesse sentido, o primeiro estudo comparou o eritrograma, perfil oxidativo e interação mineral em cordeiros anêmicos

suplementados com duas formas de ferro. Já o segundo, comparou o depósito hepático de ferro, hemograma e o desempenho de cordeiros anêmicos suplementados com ferro de forma oral e parenteral.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Os microminerais, ou também chamados elementos traços ou oligoelementos, estão presentes em quantidades pequenas no organismo e são expressos em mg/kg ou ppm (partes por milhão) de peso vivo (ORTOLANI, 2002). De acordo com Monteiro (2006), estes microminerais exercem grande importância para a nutrição animal, já que são constituintes de células e tecidos, possuindo ainda função de regulação de diversos processos biológicos vitais. Entre estes elementos, o ferro (Fe) desempenha papel importante em diversos processos metabólicos vitais aos seres vivos, participando no transporte de oxigênio, síntese de DNA e reações redox na cadeia mitocondrial transportadora de elétrons (LEVENSON e TASSABEHJI, 2004). Além disso, devido a sua capacidade de se interconverter entre a forma férrica (Fe^{+3}) e a forma ferrosa (Fe^{+2}) torna-se um componente muito útil na estrutura molecular de diversas proteínas e enzimas (CRICHTON et al., 2002).

Existem variações sobre a distribuição do ferro no organismo, entretanto sabe-se que as proporções mais importantes da totalidade de ferro corporal encontram-se na hemoglobina (60%) (UNDERWOOD e SUTTLE, 1999). Segundo o que relata Florez (1997), até 80% do ferro orgânico é destinado para a função eritrocítica, ou seja, está presente no eritrócito como hemoglobina. O restante deste mineral no organismo está distribuído na mioglobina (3%), nos locais de estoque como ferritina e hemossiderina (20%) e em várias enzimas (catalases, citocromos, peroxidases) numa pequena quantidade (1%) (HAYS e SWENSON, 1996).

2.1. FERRO E A FORMAÇÃO DO SANGUE:

O ferro como componente sanguíneo tornou-se evidente durante o século dezessete, quando foi demonstrado que mulheres que apresentavam anemia ferropriva respondiam positivamente ao tratamento com sais de ferro. UNDERWOOD (1977) apud UNDERWOOD

e SUTTLE (1999) comentam que em 1866, foi descoberto que os cristais de hemoglobina em equinos continham 0,335% de ferro.

Nesse sentido, vários trabalhos demonstram que a suplementação de ferro leva a um aumento na eritropoiese. Os resultados obtidos por Ashmead (2001), mostram que a suplementação oral deste mineral em doses diárias ou doses altas intermitentes aumentam a sua biodisponibilidade com conseqüente aumento na resposta eritropoiética em monogástricos. Hurtado et al. (1999), concluíram que a suplementação semanal de ferro oral em indivíduos anêmicos levou a um aumento nos níveis de hemoglobina e volume corpuscular médio (VCM), indicando um aumento na resposta medular. Da mesma forma, a utilização de ferro dextrano, forma injetável, melhora a resposta reticulocitária em cordeiros anêmicos (ROCHA et al., 2007). Este aumento na resposta medular ocorre devido a quantidade de ferro liberado para o eritrócito imaturo é diretamente dependente da concentração do ferro sérico, o que é ocasionado pela suplementação com este mineral (SCHOLL et al., 2000).

Em torno de 60-70% do ferro encontra-se na hemoglobina, tendo como principal função o transporte de oxigênio e gás carbônico. O ferro é indispensável para a formação da hemoglobina, formando o núcleo heme, onde um átomo de ferro divalente (Fe^{+2}) encontra-se no centro do núcleo tetrapirrólico (protoporfirina IX) (BAKER e MORGAN, 1994). Além do ferro, outros elementos também são essenciais para a eritropoiese como a vitamina B12, ácido fólico (GEOR e WEISS, 1993), cobre, cobalto (CARLSON, 1996) e vitamina B6 (HARVEY, 1989). Rocha et al. (2008), concluíram que a suplementação de ferro dextrano associado à vitamina B12 em cordeiros aumenta a resposta medular.

O ferro necessário para a síntese da porção heme da hemoglobina vem principalmente dos compartimentos de reserva. O ferro pode ser estocado em duas formas: ferritina e hemossiderina. A ferritina é a mais importante proteína de reserva de ferro presente em todas

as células, especialmente naquelas envolvidas na síntese de compostos que contêm ferro (precursores eritróides) e no metabolismo e reserva de ferro (hepatócitos e macrófagos) (COOK, 1999).

Sabe-se que a transferrina (proteína responsável pelo transporte de ferro no sangue), não participa somente no transporte deste mineral para os tecidos alvos (medula óssea, fígado), mas também participa diretamente na entrada do ferro para o interior da célula por meio da internalização. A interação entre as células eritróides e a transferrina ocorre por meio de um grande número de receptores de membrana, presentes nos eritroblastos (milhões) e nos reticulócitos (milhares) (MALIKIDES et al., 2000). Este número menor de receptores para transferrina nos reticulócitos, justifica a menor concentração de hemoglobina nestas células (HOFFBRAND et al., 2004), onde sabe-se que a síntese de hemoglobina processa-se concomitantemente à maturação das hemácias na medula, tendo 65% da hemoglobina sintetizada na fase de eritroblasto e o restante (35%), na fase reticulocitária (COOK, 1999).

A entrada de ferro na célula (eritroblasto ou reticulócito) começa com a união do receptor de membrana ao complexo Fe-transferrina em sítios especializados da membrana denominados de “Coated Pits” (CP). Esta união é mediadora da endocitose do complexo Fe-transferrina formando uma vesícula internalizada constituída na superfície interna pela membrana plasmática externa e o próprio complexo Fe-transferrina (DIMITRIOU et al., 2000). Estas vesículas originam estruturas denominadas CDRL (Compartimento de Desacoplamento do Receptor-Ligante), responsáveis pela redução do pH interno. No pH baixo a afinidade da transferrina pelo ferro diminui liberando-o para síntese de hemoglobina. A transferrina livre do ferro (apotransferrina) é transportada de volta à superfície celular, onde em contato com o pH sanguíneo (7,4), é liberada do receptor, ficando este disponível para ligar-se a outros complexos Fe-transferrina (FEELDERS et al., 1999).

Entretanto, para que ocorra a produção de células vermelhas é necessário um estímulo hormonal. A eritropoietina, hormônio protéico sintetizado pelas células adjacentes ao túbulo renal proximal em resposta a uma hipóxia renal, é responsável pela regulação da eritropoiese. No adulto, o rim é o local de maior síntese deste hormônio, embora o fígado possa ser responsável por 10-15% da eritropoietina plasmática (CAR, 2000). Após a sua liberação no sangue, a eritropoietina vai até a medula óssea, onde se liga aos receptores eritróides das células progenitoras, levando a sua proliferação e maturação (PIERCY et al., 1998). Em torno de cinco a sete dias transcorrem do estímulo da célula tronco eritropoética pela eritropoietina até a saída de eritrócitos da medula óssea para a circulação sanguínea, e o que determina o grau de resposta é a quantidade de ferro disponível (SCHOLL et al., 2000).

2.2 ABSORÇÃO DE FERRO E SUA INTERAÇÃO COM OUTROS MICROMINERAIS (ZINCO E COBRE)

O ferro da dieta pode apresentar-se de duas formas: heme e não-heme ou inorgânica. Embora a forma hêmica (Fe^{+2}) seja mais biodisponível, a forma inorgânica (Fe^{+3}) está presente em maior concentração na dieta (VAN DER A et al., 2005). De acordo com o descrito por Hillman (1998), o ferro é absorvido no duodeno e na porção proximal do jejuno, principalmente na forma ferrosa, de acordo com a necessidade do organismo, concentração de ferro nas células da membrana apical do enterócito e quantidade na dieta.

No caso do ferro na sua forma férrica (Fe^{+3}), para ele ser absorvido pela membrana apical do enterócito, é necessário que ocorra a sua oxidação à forma ferrosa. Este processo é regulado pela ação de uma proteína de membrana chamada de citocromo b duodenal ferredutase (Dcytb). Após a conversão do Fe^{+3} em Fe^{+2} , este é transportado pela membrana apical através de um transportador de metal divalente (DMT-1) (ANDERSON et al., 2007). Já

o transporte intracelular do ferro é feito por uma proteína denominada mobiliferrina (CHASTON et al., 2008). Para que ocorra a transferência de ferro do epitélio intestinal para a transferrina é necessária a presença de ceruloplasmina, uma metaloproteína cobre-dependente sintetizada no fígado, e de ferroportina, uma proteína que constitui um canal na membrana celular do enterócito que regula a passagem de ferro para o exterior da célula. A ceruloplasmina também é responsável pela mobilização do ferro dos seus locais de estoque (COOK, 1999).

Os níveis de ferro devem ser controlados, pois tanto a sua deficiência como seus efeitos tóxicos podem causar morte celular (HENTZE et al., 2004). Para tanto, existe um mecanismo de regulação, onde a absorção duodenal e a excreção fecal são reguladas pela necessidade do organismo (OATS, 2007). Este processo de homeostasia do ferro se dá pela expressão das proteínas envolvidas na absorção deste mineral, onde em situações de deficiência de ferro ou aumento da necessidade (gestação, estro, perdas sanguíneas) há uma maior absorção de ferro pela presença em maior quantidade das proteínas transportadoras de metal divalente (DMT-1) e ferroportina (DONOVAN et al., 2006).

No entanto, a hepcidina é considerada a principal substância responsável pela regulação do metabolismo do ferro. Esta é um hormônio protéico sintetizada no fígado que tem como mecanismos de ação a regulação da absorção intestinal de ferro e a reciclagem deste mineral do sistema reticuloendotelial (GANZ, 2005). A regulação da absorção é feita a partir do controle da expressão de ferroportina (SCHIMANSKI et al., 2005). Desta forma, em situações de excesso de ferro na dieta a concentração de hepcidina aumenta diminuindo assim a absorção intestinal de ferro (NEMETH et al., 2003), em contrapartida, quando a necessidade de ferro aumenta, diminui os níveis de hepcidina, conseqüentemente a quantidade de ferroportina é maior na tentativa de manter os níveis corpóreos de ferro (NICOLEAS et al., 2002).

A suplementação mineral é uma tecnologia que busca o aumento de produtividade em rebanho (HENRY e MILES, 2000). O incremento de ferro oral na dieta tem benefícios em relação aos parâmetros sanguíneos Ashmead (2001), no entanto, o metabolismo dos minerais não pode ser considerado de maneira isolada, sendo a biodisponibilidade destes elementos influenciada pelas interações entre os mesmos (NOCEK et al., 2006). Estas interações podem ser de forma direta, quando ocorrem fenômenos competitivos durante a absorção intestinal ou utilização tecidual e, indiretas quando um mineral está envolvido no metabolismo do outro, de modo que a deficiência ou excesso de um acarreta no prejuízo da função do outro (BREMNER e BEATTIE, 1995).

A interação entre minerais traços é influenciada por diversos fatores, entre eles, propriedades físico-químicas, estrutura eletrônica, potencial redox, configuração geométrica, entre outros (COOK e LYNCH, 1986). Minerais que apresentam similaridade em uma dessas propriedades apresentam afinidade entre si, e têm a possibilidade de desenvolver uma relação de antagonismo (SHILS e YOUNG, 1998).

No caso do ferro, ele diminui a biodisponibilidade de cobre e zinco (ORTOLANI, 2002). Segundo Dunn et al. (2006), o antagonismo entre ferro e zinco se dá por dois mecanismos: através da proteína transportadora de metal divalente (DMT-1), proteína responsável pelo transporte de ferro pela membrana apical e de outros prótons como o zinco, cobre e manganês; e também no caso do zinco existe o antagonismo pela mobiliferrina, proteína responsável pelo transporte intracelular de ferro, zinco, cobalto e chumbo, causando competição pela absorção entre eles (CHASTON et al., 2008).

Em relação ao cobre, além do citado acima sobre a proteína transportadora de metal divalente (DMT-1), acredita-se também, que o sulfato presente no rúmen também tenha papel de antagonista ao se ligar ao ferro formando um complexo insolúvel de sulfato de ferro (FeS). Este complexo no pH ácido do abomaso é dissociado onde o sulfato se liga ao cobre

formando um complexo insolúvel de sulfato de cobre (CuS), tornando o cobre indisponível para absorção (SUTTLE, 1991).

2.3 FERRO: DEFICIÊNCIA E TOXICIDADE

2.3.1 Deficiência:

A manifestação mais facilmente detectável em um desequilíbrio entre a ingesta e a perda de ferro pelo organismo é um quadro de anemia (WEISS, 2002). Pela definição da Organização Mundial da Saúde (1975) apud Jacob et al. (1980), a anemia é caracterizada pela diminuição na concentração de hemoglobina ou dos demais parâmetros das células vermelhas do sangue (hematócrito, contagem de eritrócitos) abaixo dos níveis fisiológicos em consequência da carência de um ou mais nutrientes essenciais. Raramente a anemia é uma causa primária de doença e sim resultado de um processo sistêmico. A anemia por deficiência de ferro resulta de longos períodos de balanço negativo entre a quantidade de ferro biologicamente disponível e a necessidade orgânica desse oligoelemento (MILMAN, 1996). Segundo JACOB et al., (1980), a deficiência de ferro no organismo geralmente desenvolve-se de maneira lenta e progressiva. Inicialmente, observa-se a diminuição gradual dos estoques de ferro, seguida da redução da oferta de ferro à eritropoiese, acompanhada da diminuição da concentração da hemoglobina circulante até a instalação da anemia propriamente dita.

O diagnóstico de anemia ferropriva é complexo, sendo necessários vários parâmetros laboratoriais para caracterizar seus diferentes estádios. A mensuração de hemoglobina e hematócrito permitem, na maioria das vezes, o diagnóstico da anemia, entretanto, na confirmação da deficiência de ferro é importante avaliar as reservas deste mineral no

organismo, sendo a medida de ferritina uma ferramenta de uso comum (DUNCAN e PRASSE, 1982).

A classificação morfológica das anemias baseia-se no tamanho e na concentração de hemoglobina dos eritrócitos. Em relação ao tamanho avalia-se o volume corpuscular médio (VCM), podendo ser normocítica, onde o tamanho das células está normal; macrocítica, indicando a presença de células jovens, ou então, nas anemias megaloblásticas e microcítica, células pequenas característico das deficiências de ferro (BEARD et al., 1997). Quanto à coloração, o que se afere é a concentração de hemoglobina (CHCM, HCM), podendo ser normocrômica ou hipocrômica (JAIN, 2006). Esta classificação é útil principalmente na detecção da deficiência de ferro e anemias megaloblásticas (DUNCAN e PRASSE, 1982). Os sinais clínicos de anemia (taquipnéia, taquicardia, redução na tolerância ao exercício, e depressão) refletem ajustes fisiológicos ao inadequado transporte de oxigênio aos tecidos do organismo. Anemia é acompanhada por palidez da mucosa, exceto quando é causado por destruição dos eritrócitos, caso em que ocorre hiperbilirrubinemia e icterícia (FISCHER, 2008).

2.3.1.1 Anemia em ovinos

A helmintose é o principal problema sanitário em rebanhos de pequenos ruminantes (HOSTE et al., 2005). Entre os vermes que parasitam estas espécies, se destaca o *Haemonchus contortus* por apresentar a característica de ser hematófago (SILVA et al., 2002). Desta forma, animais com alto parasitismo podem apresentar um quadro de anemia grave em um curto período de tempo (VIEIRA et al., 1997). Segundo Soulsby (1987), nos casos hiperagudos de haemoncose pode ocorrer morte súbita como consequência de uma gastrite

hemorrágica. Além disso, apresentam também redução na concentração de proteína sérica total (hipoproteinemia) e reduzido ganho de peso (ANDERSON, 1982).

Este baixo desempenho pode estar associado à diminuição nos níveis de ferro em animais parasitados devido à participação deste mineral no metabolismo energético. De acordo com McDowell et al. (1991), as enzimas que fazem parte da oxidação da glicose através do ciclo do ácido tricarboxílico (Ciclo de Krebs) contêm ferro nos seus centros de atividades ou o possui como co-fator essencial. Outro papel deste mineral está relacionado com a atividade da cadeia respiratória, onde o processo de fosforilação oxidativa e conseqüente geração de adenosina tri-fosfato (ATP), água metabólica e oxigênio molecular depende da ação da citocromo-oxidase, que tem como co-fator o ferro (FERREIRA et al., 2008).

Entretanto, a exposição contínua a uma quantidade baixíssima de larvas infectantes permite que os animais se adaptem a infecção, tornando os sinais clínicos mais brandos (COOP e ANGUS, 1981), e assim, as respostas imunológicas se desenvolvem de maneira lenta e incompleta, possibilitando à reincidência das formas clínicas (PADILHA et al., 2000). Associado a este fator, o controle da verminose é feito basicamente através da administração de fármacos de forma indiscriminada. Isto possibilita o desenvolvimento da perda da susceptibilidade dos parasitas frente aos anti-helmínticos (MILLER; HOROBOV, 2006). Sendo assim, Larsen (2006) comenta que é necessário o desenvolvimento de alternativas que diminuam a utilização de vermífugos sem reduzir produtividade. Qualquer medida que se tome pra reduzir a utilização de fármacos no controle da verminose, possibilita o aumento no rebanho de animais resilientes. Segundo Amarante et al. (2004), estes animais são parasitados, porém não apresentam redução no desempenho produtivo, sendo assim, responsáveis pela manutenção da refúgia, ou seja, a população de parasitas sensíveis na pastagem.

De acordo com Rocha et al. (2008), a suplementação de ferro surge com uma alternativa na manutenção do eritrograma em ovinos parasitados por *Haemonchus contortus* em função do papel deste mineral na produção de células vermelhas, já que a redução na concentração dos eritrócitos é a principal alteração patológica causada por esta parasitose.

2.3.2 Toxicidade

2.3.2.1. O ferro e a geração de radicais livres

As moléculas orgânicas e inorgânicas e os átomos que contêm um ou mais elétrons não pareados, com existência independente, podem ser classificados como radicais livres (HALLIWELL, 1994). Esta configuração eletroquímica muito instável confere a estas estruturas alta reatividade e vida curta. Uma vez formados, os radicais livres interagem com outras moléculas através de reações de oxiredução com o propósito de estabilizar sua configuração eletrônica (NORDBERGER e ARNER, 2001). A classificação dos radicais livres se dá pelo grupo funcional presente em sua molécula, porém os processos aeróbicos que envolvem o oxigênio são os mais comuns e seus produtos são denominados de espécies reativas do oxigênio (EROs) (CHIHUAILAF et al., 2002).

Exemplos de radicais livres são: oxigênio molecular (O_2), radical hidroxil (OH^\cdot), ânion superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), radical peroxil (ROO^\cdot), radical alcóxil (RO^\cdot) e óxido nítrico (NO^\cdot) (YU, 1994; DRÖGE, 2002). Destes radicais livres, o radical hidroxil, o peróxido de hidrogênio e o ânion superóxido são os que têm maior importância biológica porque são formados durante o processo normal de redução do O_2 à água na cadeia mitocondrial transportadora de elétrons (BENZI, 1993; MOLINA, 2003).

Radicais livres podem ser formados pela perda de um único elétron ou pelo ganho de um elétron de uma substância não radical. Isto ocorre quando uma ligação covalente é quebrada e um elétron de cada um dos pares permanece em cada átomo (FABRIS, 1991). A grande maioria dos radicais livres possui como característica uma meia-vida muito curta, indo de minutos a nanossegundos, sendo capazes de reagir rapidamente com vários compostos ou atingir alvos celulares, como as membranas (HALLIWELL, 1994).

A formação de radicais livres *in vivo* ocorre via ação catalítica de enzimas, durante os processos de transferência de elétrons que ocorrem no metabolismo celular e pela exposição à fatores exógenos. Contudo, na condição de pró-oxidante a concentração desses radicais pode aumentar devido à maior geração intracelular ou pela deficiência dos mecanismos antioxidantes (CERUTTI, 1994). O desequilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes que resulta na indução de danos celulares pelos radicais livres tem sido chamado de estresse oxidativo (SIES, 1993).

A lipoperoxidação das membranas celulares causada pelo estresse oxidativo, ocorre como uma reação em cadeia dividida em etapas. A etapa de iniciação corresponde ao seqüestro do hidrogênio do ácido graxo poliinsaturado da membrana celular pelo radical hidroxil ou alcoxil formando o radical lipídico. Na etapa de propagação, o radical lipídico reage rapidamente com o oxigênio, resultando em um radical peroxil que por sua vez seqüestra um hidrogênio de um novo ácido graxo poliinsaturado, formando novamente o radical lipídico. A etapa de terminação ocorre quando os radicais lipídico e peroxil produzidos anulam-se (GATÉ et al., 1999; DOTAN et al., 2004). Os hidroperóxidos formados podem se decompor em numerosos produtos aldeídos de diferentes comprimentos de cadeia, reativos ao ácido tiobarbitúrico (TBA) (HALLIWELL, 1994).

O peróxido lipídico formado pode acumular-se até certo grau dentro do órgão ou tecido produzindo redução irreversível da fluidez da membrana, aumentando sua

permeabilidade e resultando em perda da integridade da membrana e ruptura da célula (WICKENS, 2001). Com a destruição celular, o peróxido lipídico é liberado para a circulação sanguínea elevando sua concentração sérica ou plasmática, indicando a ocorrência de lesão de membrana celular. O excesso de peróxidos lipídicos não pode ser excretado na urina e circula no sangue podendo causar lesões em outras células, órgãos e tecidos intactos, possibilitando o desenvolvimento de doenças secundárias (YAGI, 1987).

A peroxidação dos lipídios das membranas celulares é apenas um exemplo de lesão biológica que pode ser promovida pelos radicais livres, uma vez que praticamente todas as biomoléculas são suscetíveis à oxidação (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1989).

Os eritrócitos são constantemente expostos às TBARS devido a sua função de transportar oxigênio via hemoglobina. Esta oxidação dos eritrócitos tem sido extensivamente estudada como um modelo de dano oxidativo das biomembranas, e isto tem demonstrado que as TBARS atacam as membranas dos eritrócitos para induzir a oxidação de lipídios e proteínas, eventualmente causando hemólise (TIANO, et al., 2000). De acordo com Bondan et al. (2005), a diminuição na síntese de enzimas antioxidantes leva a um aumento na fragilidade da membrana eritrocitária e conseqüentemente hemólise.

Toda e qualquer biomolécula é susceptível a ação oxidante dos radicais livres (YU, 1994), porém, para se protegerem contra oxidações os organismos dispõem de mecanismos químicos e enzimáticos (DRÖGE, 2002). A principal função do sistema de defesa antioxidante do organismo é inibir ou reduzir os danos causados às células pelas espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico. Existe uma grande variedade de substâncias antioxidantes, as quais podem ser classificadas em função da origem e/ou localização (JACOB, 1985). No primeiro caso, várias moléculas com propriedades antioxidantes consumidas na dieta como o alfa-tocoferol (vitamina E), beta-caroteno, selênio, ácido ascórbico (vitamina C) diminuem a ação tóxica das TBARS, assim também chamados os radicais livres, produzidas intra e

extracelular (CERUTTI, 1994). No segundo caso, quando expostos às TBARS, os organismos sintetizam proteínas (enzimas) antioxidantes como as superóxido dismutases, catalase e glutathione peroxidase (GATÉ et al., 1999).

A superóxido dismutase é uma enzima que participa no processo de detoxificação de radicais livres transformando dois ânions radical superóxido em um peróxido de hidrogênio menos reativo que o anterior, em uma reação denominada de dismutação (AMES et al., 1993). Esta enzima é encontrada em abundância no organismo e está presente no citoplasma das células e é dependente do cobre ou zinco como co-fatores e na mitocôndria onde utiliza como co-fator o mangânes (RIEGEL, 2002). Seyemen et al. (1997) encontraram valores superiores de superóxido dismutase e glutathione em ratos suplementados com ferro oral em relação ao grupo controle, isto pelo aumento na produção de TBARS resultante da suplementação do ferro levando a um aumento na resposta antioxidante.

O tripeptídeo glutathione (GSH), principalmente na sua forma reduzida, está presente na maioria das células e é o tiol (-SH) mais abundante no meio intracelular. Sua capacidade redutora está associada ao grupamento -SH presente na cisteína. A glutathione tem sido reconhecida como substrato para GSH-transferase e GSH-peroxidase, enzimas que catalisam as reações de detoxificação de compostos xenobióticos e da antioxição de espécies reativas do oxigênio e radicais livres. A principal função da glutathione é decompor o peróxido de hidrogênio em duas moléculas de água, utilizando o NADPH oriundo do ciclo das pentoses como fonte de elétrons (GALLEANO e PUNTARULO, 1995). A concentração tissular de GSH pode ser regulada pela dieta e pelo estado nutricional por ser dependente de selênio como co-fator (VANNUCCHI et al., 1997). E a catalase, uma heme proteína dependente de ferro tem a função de converter o peróxido de hidrogênio em uma molécula de água e uma de oxigênio (HÖER et al., 2000). O desequilíbrio entre a produção de espécies reativas do oxigênio (EROs) e a remoção pelos sistemas de defesa antioxidante é denominado de estresse

oxidativo. O estresse oxidativo é uma condição celular ou fisiológica de elevada concentração de EROs ou diminuição do *status* antioxidante que causa danos moleculares às estruturas celulares, com conseqüente alteração funcional e prejuízo das funções vitais (DRÖGE, 2002).

O ferro tem a capacidade de aceitar e doar elétrons, prontamente, interconvertendo-se entre a forma férrica (Fe^{+3}) e a forma ferrosa (Fe^{+2}). Esta propriedade o torna um componente muito útil em citocromos, em moléculas que ligam e transportam oxigênio (hemoglobina e mioglobina), e em muitas enzimas que realizam processo redox, funcionando como transportadoras de elétrons. Entretanto, também pode causar danos aos tecidos, se atuar como catalisador na conversão do peróxido de hidrogênio em radicais livres que atacam a membrana celular, proteínas e DNA (DOTAN et al, 2004). A produção do radical hidroxil, a espécie mais citotóxica, é facilitada pelo ferro, que catalisa a interação do ânion superóxido e do peróxido de hidrogênio através das reações de Fenton e Haber-Weiss (SCHIMMEL e BAUER, 2002). O sistema Fenton pode gerar o radical hidroxil através da ativação do peróxido de hidrogênio pela ação de íon de transição. A seqüência das reações de redução do peróxido de hidrogênio pelo Fe^{+2} e a redução do Fe^{+3} pelo ânion superóxido constitui o ciclo de Haber-Weiss. Nele o ânion superóxido, tendo o íon ferroso como catalisador, garante a contínua formação da radical hidroxil (RIEGEL, 2002).

Os resultados encontrados por Rocha et al. (2007), demonstram um aumento na peroxidação dos lipídios de membrana do eritrócito pela ação de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em cordeiros suplementados com doses altas de ferro injetável. Resultados similares foram obtidos por KNUTSON et al. (2000) através da aplicação de ferro oral em ratos. Além de catalisar a conversão do peróxido de hidrogênio em radical hidroxil, o ferro atua diretamente sobre a membrana celular atuando como um agente pró-oxidante pela sua capacidade de interconverter-se entre forma ferrosa e forma férrica seqüestrando ou cedendo elétrons e assim, desestabilizando a membrana da célula (WICKENS, 2001). A

suplementação de ferro venoso para humanos em tratamento para hemodiálise leva a um aumento de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), assim também chamado os radicais livres, e uma diminuição nos valores de enzimas antioxidantes (ROOB et al., 2000).

2.3.2.2 Lesão nos locais de estoque:

O ferro é estocado nos locais de depósito ligados à ferritina ou hemossiderina. Segundo Papanikolaou e Pantopoulos (2005), este mineral é estocado na medula óssea, baço e principalmente no fígado. O seu estoque somente vai ocorrer em situações em que a quantidade existente é superior às exigências do organismo.

Quando em excesso, o ferro pode ser tóxico aos seus locais de depósito (DUNN et al., 2006), podendo danificar as membranas celulares, e no caso do fígado, levar a insuficiência hepática (MONTEIRO, 2006). Este excesso de ferro hepático pode ser de origem patológica ou então relacionado ao uso exacerbado deste mineral na forma parenteral. Para se observar lesões nos órgãos de depósito, a concentração precisa ser vinte vezes acima do fisiológico (PAPANIKOLAOU e PANTOPOULOS, 2005).

Para avaliar os níveis corpóreos de ferro e outros minerais, o fígado é o que apresenta a maior fidedignidade (McDOWELL et al., 1991). Além disso, quando existe a suspeita de sobrecarga hepática por este mineral (hemocromatose) deve-se realizar testes bioquímicos específicos para determinar função hepática (BEARD et al., 1997). Estes testes podem ser divididos em quatro grupos: os testes indicativos de lesão hepatocelular, representados pela aspartato amino transferase (AST) e alanina amino transferase (ALT); aqueles que indicam colestase, representados pela gama glutamil transferase (GGT) e fosfatase alcalina (FA); os que avaliam a síntese hepática, que são a albumina, uréia sérica e fatores de coagulação e

também os que avaliam o armazenamento hepático através da dosagem de bilirrubina e ácidos biliares (DIAL, 1995).

A alanina amino transferase (ALT) e a aspartato amino transferase (AST) estão presentes em vários tecidos, portanto, não são órgão-específicas (SILVA et al., 2006). Entretanto, no caso da AST, presente em maior quantidade em ruminantes, estará aumentado em situações de envolvimento do hepatócito (MOIRAND et al., 1997). Sua função é a de conversão do aminoácido aspartato em seu α -cetoácido, o oxaloacetato, indispensável para o funcionamento tanto do ciclo do ácido tricarboxílico como do ciclo da uréia, envolvida desta forma, no metabolismo energético e na excreção de amônia (RIEGEL, 2002). Como é uma enzima intracelular, o seu aumento indica dano celular (PRATT e KAPLAN, 1999).

A gama glutamil transferase (GGT) é uma enzima que, embora tenha maior concentração no tecido renal, tem sua importância clínica ligada às doenças do fígado e vias biliares (colestase e lesões hepáticas inflamatórias e tóxicas, principalmente). O extravazamento desta enzima em tecido renal é excretado via urinária. No caso do tecido hepático, esta enzima é encontrada no interior dos hepatócitos e nas células epiteliais biliares, sendo considerada marcadora de lesão hepatobiliar de alta sensibilidade, porém de pouca especificidade, uma vez que pode estar alterada por uso de medicações ou doenças sistêmicas (DUFOUR et al., 2000).

No caso da albumina, ela é a proteína mais abundante no soro sanguíneo. Sua síntese é exclusiva de tecido hepático e representa em torno de 20% da capacidade de síntese diária deste órgão (PETERS, 1977). Sendo assim, a sua mensuração tem um papel importante na avaliação da capacidade da síntese hepática (DUNN, 1992). De acordo com Hughes e King (1995), outro papel importante na interpretação clínica dos resultados de albumina sérica, é determinar se a lesão hepática é de curso crônico ou agudo.

2.3.2.3 Ferro e leucócitos

De acordo com Hershko (1993), o ferro também é essencial para o crescimento da maioria das bactérias patogênicas para o organismo. Estes germes patogênicos produzem compostos próprios para captação e ligação do ferro em suas membranas, os sideróforos, competindo assim com a proteína de transporte deste mineral no organismo, a transferrina. Aceita-se que, *in vivo*, a fonte de ferro para os sideróforos é a transferrina, portanto um aumento na concentração desta proteína possibilitaria multiplicação bacteriana e conseqüentemente instalação de um processo infeccioso (BROCK, 1986). Segundo o que descreve SHAU et al. (1992), na hemocromatose e na sobrecarga de ferro aumentam-se os níveis sanguíneos de transferrina, tornando o ferro mais acessível às bactérias, favorecendo sua multiplicação.

CAPÍTULO 1

TRABALHO A SER ENVIADO PARA PUBLICAÇÃO

**ERITROGRAMA, PERFIL OXIDATIVO E INTERAÇÃO
MINERAL EM CORDEIROS RESILIENTES SUPLEMENTADOS COM
DIFERENTES FORMAS DE FERRO ORAL**

Ricardo Xavier da Rocha, Marcelo Cecim

**Eritrograma, perfil oxidativo e interação mineral em cordeiros resilientes
suplementados com diferentes formas de ferro oral**

**Erythrogram, oxidative profile and mineral interaction in resilient lambs supplemented
with different forms of oral iron**

Ricardo Xavier da Rocha, Marcelo Cecim

RESUMO

A anemia em ovinos causada por verminoses gastrintestinais é a principal causa de baixo desempenho e mortalidade nesta espécie. Nesse sentido, o ferro é utilizado no tratamento da anemia, porém, o seu excesso pode comprometer a absorção e utilização de zinco e cobre, especialmente quando em formulações anti-anêmicas, que utilizam doses altas deste mineral. Sendo assim, o presente estudo teve por objetivo avaliar o perfil oxidativo, eritrograma e interação mineral em cordeiros com anemia verminótica suplementados com diferentes formas de ferro oral. Foram utilizados 27 cordeiros com idade entre 6 e 8 meses naturalmente infectados por *Haemonchus contortus*, apresentando hematócrito entre 16 e 18%. Os animais foram divididos em três grupos; Grupo controle (GC) n= 9, Grupo Sulfato ferroso (G2) n= 9 e Grupo Sulfato férrico (G3) n= 9. Os animais do G2 receberam via oral diariamente 1 grama de sulfato ferroso (Fe^{+2}), equivalente a 200 miligramas de ferro, os animais do G3 receberam 1 grama de sulfato férrico (Fe^{+3}) via oral diariamente, também equivalente a 200 miligramas de ferro, enquanto que os animais do GC não receberam tratamento. As coletas foram realizadas nos dias 0, 7, 14, 21 e 28 do experimento, e durante quatro dias dois animais de cada grupo foram mantidos em gaiolas metabólicas para mensuração da excreção fecal de

¹ Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade federal de Santa Maria (UFSM), 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil. aluno do

^{II} Departamento de Clínica de Grandes Animais, Hospital Veterinário, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: mcecim@smail.ufsm.br. Autor para correspondência

minerais. Não houve diferença estatística entre os grupos nos valores de ferro sérico e parâmetros de células vermelhas do sangue. Os valores de cobre e zinco sérico foram inferiores nos G2 e G3 nos dias 21 e 28 do experimento, enquanto que a excreção fecal de cobre, ferro e zinco foram superiores nesses mesmos grupos. Os níveis de SOD foram inferiores nos G2 e G3 no dia 28 enquanto que a mensuração dos NPTH demonstrou diminuição nos dias 21 e 28. Em relação ao TBARS, houve um aumento no dia 28 nos G2 e G3. De acordo com os resultados obtidos, conclui-se que a suplementação de 200mg de ferro, independente da sua forma, ferrosa ou férrica, não aumenta a resposta eritrocitária em cordeiros. Bem como, tem ação antagonista sobre cobre e zinco, diminuindo suas concentrações séricas e aumentando a excreção fecal destes minerais. Além disso, pela diminuição das concentrações séricas de cobre e zinco causa uma diminuição da atividade da superóxido dismutase, ocasionando uma situação de estresse oxidativo.

Palavras-chave: TBARS, verminose, ovinos.

ABSTRACT

The anemia in sheep caused by gastrointestinal verminosis is the main cause of poor performance and mortality in this species. So, iron is used in the anemia treatment, however, its excess can compromise the zinc and copper absorption and use, especially in anti-anemic formulations which use high doses of this mineral. So, the present study aimed to assess the oxidative profile, erythrogram and mineral interaction in lambs with anemia due to worm infection supplemented with different forms of oral iron. It was used 27 lambs level 6 to 8 month old naturally infecteds by *Haemonchus contortus*, which showed hematocrit between 16 and 18%. The animals were divided in three groups: Control Group (GC) n=9, Ferrous Sulphate Group (G2) n=9 and Ferric Sulphate Group (G3) n=9. The animals of G2 received 1 g of ferrous sulphate (Fe^{+2}) orally daily, equivalent to 200 milligrams of iron, the animals of G3 received 1 g of ferric sulphate (Fe^{+3}) orally daily, or equivalent to 200 milligrams of iron,

whereas the GC received no treatment. The information collection was done on day 0, 7, 14, 21 and 28 of the experiment, and during four days two animals of each group were kept in metabolic cages to measure the faecal minerals excretion. There was no statistical difference among the groups about serum iron values and parameters of red blood cells. The serum copper and zinc values were lower in the G2 and G3 on days 21 and 28 of the experiment, whereas the faecal copper, iron and zinc excretion was higher in the same groups. The SOD levels were lower in the G2 and G3 on day 28 whereas the NPTH measurement showed a decrease on days 21 and 28. In relation to TBARS, there was an increase on day 28 in the G2 and G3. Based on these results, it was concluded that the oral supplementation with 200 mg of iron, irrespective of its form, ferrous or ferric, does not increase the erythrocyte response in lambs. As well as, it has antagonist action on copper and zinc, reducing its serum concentrations and increasing the faecal excretion of these minerals. Moreover, the decrease of the serum copper and zinc concentrations causes a decrease in activity of superoxide dismutase, causing an oxidative stress situation.

Key-words: TBARS, verminosis, sheep.

INTRODUÇÃO

A ovinocultura é uma atividade de importância socioeconômica, sendo a produção de carne de cordeiro cada vez mais procurada, principalmente, pela crescente demanda de consumo, e lucratividade proporcionada (VIANA e SOUZA, 2007). Além disso, as tendências para o mercado ovino são promissoras, conforme FAO (2005), a demanda de carne nos países em desenvolvimento vem sendo impulsionada pelo crescimento demográfico, pela urbanização e pelas variações das preferências e dos hábitos alimentares dos consumidores. Dessa forma, estima-se um crescimento anual de 2,1 % na produção de carne ovina durante o período de 2005 a 2014, registrando-se essa elevação principalmente em países em desenvolvimento.

Sendo assim, o uso de tecnologias como a suplementação mineral, se faz necessário para acarretar em aumento de produtividade no rebanho ovino (HENRY e MILES, 2000). Entretanto, o metabolismo dos minerais não pode ser considerado de maneira isolada, sendo a biodisponibilidade destes elementos influenciada pelas interações entre os mesmos (NOCEK et al., 2006). Estas interações podem ser de forma direta, quando ocorrem fenômenos competitivos durante a absorção intestinal ou utilização tecidual e, indiretas quando um mineral está envolvido no metabolismo do outro, de modo que a deficiência ou excesso de um acarreta no prejuízo da função do outro (BREMNER e BEATTIE, 1995).

Em ovinos jovens, os índices de morbidade e mortalidade são significativamente elevados em consequência de síndromes anêmicas, principalmente durante o desenvolvimento de verminoses gastrintestinais (KAWANO et al., 2001; MELLOR e STAFFORD, 2004). Nesse sentido, Rocha et al (2007) afirmam que a suplementação de ferro em doses altas na forma injetável aumenta a resposta reticulocitária em cordeiros anêmicos, e de acordo com Ashmead (2001) a suplementação oral deste mineral em doses diárias ou doses altas intermitentes têm demonstrado um aumento na sua biodisponibilidade e conseqüentemente melhora na resposta eritropoiética em monogástricos. Segundo resultados de Hurtado et al. (1999), a suplementação semanal de ferro oral em indivíduos anêmicos leva a um aumento nos níveis de hemoglobina e volume corpuscular médio (VCM), indicando um aumento na resposta medular.

Porém, o ferro diminui a biodisponibilidade de cobre e zinco (ORTOLANI, 2002), que são componentes da enzima superóxido dismutase, responsável esta, pelo processo de detoxificação de radicais livres transformando dois ânions radicais superóxido em um peróxido de hidrogênio menos reativo que o anterior (AMES et al., 1993). Além disto, também pode causar danos aos tecidos, se atuar como catalisador na conversão de peróxido de hidrogênio em radicais livres que atacam a membrana celular, proteínas e DNA (RIEGEL,

2002). Os resultados encontrados por Rocha et al. (2007), demonstram um aumento na peroxidação dos lipídios de membrana do eritrócito pela ação de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em cordeiros suplementados com doses altas de ferro injetável. Resultados similares foram obtidos por Knutson et al. (2000) através da aplicação de ferro oral em ratos. Nesse sentido, o presente estudo teve por objetivo avaliar o perfil oxidativo, eritrograma e interação mineral em cordeiros resilientes suplementados com diferentes formas de ferro oral.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 27 cordeiros com idade entre 6 e 8 meses. Os animais no dia zero do experimento apresentaram hematócrito entre 16 e 18%. Foram formados três grupos; Grupo controle (GC) n=9, Grupo Sulfato ferroso (G2) n=9 e Grupo Sulfato férrico (G3) n=9. Os animais do G2 receberam via oral diariamente durante 28 dias 1 grama de sulfato ferroso (Fe^{+2}), equivalente a 200 miligramas de ferro, os animais do G3 receberam 1 grama de sulfato férrico (Fe^{+3}) via oral diariamente durante 28 dias, também equivalente a 200 miligramas de ferro, enquanto que os animais do GC não receberam tratamento. Os animais foram mantidos em baias no sistema de cama sobreposta com água à vontade e a alimentação composta de feno de alfafa (*Medicago sativa*). A suplementação de ferro mais a concentração deste mineral na alfafa totalizaram um fornecimento de 800ppm/dia por cordeiro. Durante quatro dias, dois animais de cada grupo foram mantidos em gaiolas metabólicas para coleta de fezes com o objetivo de mensuração da excreção fecal de ferro, cobre e zinco. A contagem de ovos por grama de fezes, OPG, foi obtido individualmente pela técnica de Gordon e Whitlock (1939) nos dias 0, 7, 14, 21 e 28 do experimento. No dia zero também foi realizado cultura de fezes e identificação de larvas (ROBERTS e O'SULLIVAN, 1950).

As coletas de sangue foram realizadas nos dias 0, 7, 14, 21 e 28 do experimento. As coletas foram feitas a partir de venopunção da jugular após anti-sepsia no local de punção. Avaliou-se os níveis séricos de ferro através de *kit* comercial (Labtes, Belo Horizonte, MG, Brasil), enquanto que a avaliação de cobre e zinco plasmático foi realizada conforme a técnica descrita por Fick et al. (1980) e a mensuração de cobre, zinco e ferro fecal foi de acordo com a descrição de Chapman e Pratt (1961). A lipoperoxidação da membrana do eritrócito foi realizada pela mensuração das espécies reativas ao ácido tio-barbitúrico (TBARS), usando malondialdeído (MDA) para construção da curva padrão, de acordo com a técnica de Ohkawa et al. (1979).

A atividade da superóxido dismutase nos eritrócitos baseou-se na capacidade da enzima em inibir a auto-oxidação da epinefrina em pH alcalino, conforme Sun e Zigman (1978). A concentração dos grupos tióis (NPTH) foi calculada usando uma curva padrão de glutathiona reduzida, de acordo com Ellman (1959). As avaliações dos parâmetros das células vermelhas do sangue (hematócrito, contagem de eritrócitos, hemoglobina) foram feitas através do método descrito por Jain et al. (2006).

A estatística constou de uma análise de variância ANOVA, sendo a comparação entre as médias feita pelo teste “t” de Student. Os cálculos foram processados no programa “Graphpad Instat”.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve diferença estatística entre os grupos na mensuração de ferro sérico em nenhum momento experimental (Tabela 1) ($P > 0,05$), apesar dos níveis de suplementação neste experimento ser mais altos que a recomendação diária para a espécie (NRC, 2001). Isto pode ser explicado devido ao mecanismo de homeostasia deste mineral, onde a absorção duodenal e a excreção fecal são reguladas pela necessidade do organismo em relação ao ferro

(OATS, 2007). Também não houve diferença nos valores de hematócrito, contagem de eritrócitos e hemoglobina ($P > 0,05$), independente da forma de administração de ferro, ferrosa ou férrica, demonstrando que não ocorreu um efeito supra fisiológico no eritrograma. A avaliação dos valores de OPG nos três grupos durante o período experimental demonstrou a presença de parasitismo (Tabela 3), entretanto, a suplementação de ferro em nenhuma das formas, G2 e G3, melhorou a resposta eritropoiética frente ao desafio da verminose. O resultado da cultura de fezes e identificação de larvas demonstrou a presença de parasitas do gênero *Haemonchus* sp (85%), *Trichostrongylus* sp. (7%), *Cooperia* sp. (5%) e *Ostertagia* sp. (3%), concordando com KATIKI et al. (2006), que citam *H. contortus* como o nematóide mais prevalente e patogênico dos ovinos no Brasil.

Segundo VAN DER A et al. (2005), o ferro dietético apresenta-se em duas formas, heme e não-heme ou inorgânica. Embora a forma hêmica (Fe^{+2}) seja mais biodisponível, a forma inorgânica (Fe^{+3}) está presente em maior concentração na dieta. Para que o ferro na forma férrica seja absorvido pela membrana apical do enterócito, ele precisa ser oxidado a forma ferrosa pela citocromo b duodenal ferredutase (Dcytb) (ANDERSON et al., 2007). Após este processo, o ferro é transportado pela membrana apical através de um transportador de metal divalente 1 (DMT-1), que além deste mineral também transporta outros prótons como cobre, zinco e manganês (DUNN et al., 2006), sendo esta uma das causas do antagonismo entre estes minerais. Além deste fator, no caso do zinco existe o antagonismo pela mobiliferrina, proteína responsável pelo transporte intracelular de ferro, zinco, cobalto e chumbo, causando competição pela absorção entre eles (CHASTON et al., 2008). Em relação ao cobre, acredita-se que o sulfato presente no rúmen também tenha papel de antagonista ao se ligar ao ferro formando um complexo insolúvel de sulfato de ferro (FeS). Este complexo no pH ácido do abomaso é dissociado onde o sulfato se liga ao cobre formando um complexo insolúvel de sulfato de cobre (CuS), tornando o cobre indisponível para absorção (SUTTLE,

1991). O excesso de ferro na dieta aumentou a excreção fecal do próprio ferro, do cobre e do zinco nos grupos G2 (ferrosa) e G3 (férica) em relação ao GC (controle) ($P < 0,05$) (Gráfico 1). O antagonismo entre estes minerais explica a diminuição dos valores de cobre e zinco plasmático nos dias 21 ($P < 0,05$) e 28 ($P < 0,05$) do experimento nos grupos G2 e G3 em relação ao GC (Tabela 1). Esta redução nos níveis séricos de cobre e zinco ficou comprovada clinicamente durante o período experimental pelo fato dos animais dos grupos G2 e G3 apresentaram o hábito de tricofagia e despigmentação da lã.

Tanto o cobre como o zinco são co-fatores da superóxido dismutase. Esta enzima participa no processo de detoxificação de radicais livres transformando dois ânions radicais superóxido em um peróxido de hidrogênio menos reativo que o anterior (AMES et al., 1993). Devido a diminuição dos valores de cobre e zinco plasmático nos dias 21 e 28, houve também no dia 28 do experimento uma redução na mensuração na atividade da superóxido dismutase (Tabela 2) ($P < 0,05$), com conseqüente aumento na mensuração das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) nos grupos G2 e G3, no dia 28 do experimento (Tabela 2) ($P < 0,05$) em relação ao grupo GC, que indica uma situação de estresse oxidativo (DRÖGE, 2002) devido a diminuição de enzimas antioxidantes, neste caso, da superóxido dismutase.

Os valores dos grupamentos tióis (NPTH) diminuíram significativamente nos G2 e G3 nos dias 21 e 28 do experimento ($P < 0,05$) (Tabela 2), em relação ao GC, provavelmente, ocasionado pela redução da superóxido dismutase, indicando um aumento na utilização da enzima glutathione peroxidase com o objetivo de neutralizar as espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (HÖER et al., 2000). Os resultados obtidos por Imai et al. (1991), demonstram que geralmente ocorre aumento nos valores de TBARS e diminuição nos valores de NPTH em situações de estresse oxidativo.

CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos, conclui-se que a suplementação de 200mg de ferro, independente da sua forma, ferrosa ou férrica, não aumenta a resposta eritrocitária em cordeiros. Bem como, tem ação antagonista sobre cobre e zinco, diminuindo suas concentrações séricas e aumentando a excreção fecal destes minerais. Além disso, pela diminuição das concentrações séricas de cobre e zinco causa uma diminuição da atividade da superóxido dismutase, ocasionando uma situação de estresse oxidativo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSON, G.J., et al. Regulation of systemic iron homeostatic: how the body response to changes in iron demands. **Biometals**, 2007.
- AMES, B.N. et al. Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging. **Procedure National Academic Science**, v.90, p.7915-7922, 1993.
- ASHMEAD, H.D. The chemistry of ferrous bisglycinate chelate. **Archives Latinoamerican Nutrition**, v.51 n.1, p.13-21, 2001.
- BREMNER I, BEATTIE JH. Copper and zinc metabolism in health and disease: speciation and interactions. **Proc Nutritional Society**, v.54, p.489-499, 1995.
- CHAPMAN, M.D. e PRATT, P.F. **Methods of analysis for soils, plants and waters**. University of California. Division of Agricultural Science, 1961, p.150-161.
- CHASTON, T. et al. Evidence for differential effects of hepcidin in macrophages and intestinal epithelial cells. **GUT**, v.57, p.374-382, 2008.
- DRÖGE, W. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiol Rev**, v.82, p.47-95, 2002.
- DUNN, L.L, RAHMANTO, Y.S., RICHARDSON, D.R. Iron uptake and metabolism in the new millennium. **Trends in cell biology**, v.17, n.2, p.93-100, 2006.
- ELLMAN, G.L. Tissue sulfhydryl groups. **Arch Biochem Biophys**, v.82, p.70-77, 1969.
- FAO. **Perspectivas agrícolas 2005-2014**. OCDE-FAO, Roma, 2005. Capítulo 4. p. 82 – 91. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/008/y9492s/y9492s00.htm>>. Acessado em: 15 de agosto de 2009.
- FICK, K.R., et al. **Métodos de análises de minerais em tecidos de animais e de plantas**. 2. ed. Flórida: Universidade da Flórida, 1980.
- GORDON, H.H.; WHITLOCK, H.V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal Council Scientific Industry Research**, v.12, p.50-52, 1939.

HENRY, P.R., MILES, R.D. Interactions among the trace minerals. **Ciência Animal Brasileira**, v.1, n.2, p.95, 2000.

HÖER, N.F., et al. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutathione associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. **Química Nova**, v.24, n.1, p.112-119, 2000.

HURTADO, E.K. et al. Early childhood anemia and mild or moderate mental retardation. **American Journal Clinical Nutrition**, p.69, p.115-119, 1999.

IMAI, K. et al. Antioxidative effect of protoporphyrin on lipid peroxidation in tissues homogenates of intravenously administrated rats. **J Pharmacobio-Dyn**, v.14, p.20-24, 1991.

JAIN, N.C. et al. **Schalm's veterinary hematology**. 5.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 2006. 1344p.

KATIKI, L. et al. Alternativas de controle da verminose. In: CUNHA, E. A. et al. (Eds). VIII REUNIÃO TÉCNICA Produção Intensiva de Ovinos: Pastagem e Confinamento, 2006, São Paulo. **Anais...** Nova Odessa: Instituto de Zootecnia, 2006. (p. 95-114, CD-ROM).

KAWANO, E.L. et al. Efeitos do tratamento com anti-helmíntico em cordeiros naturalmente infectados com helmintos gastrintestinais sobre os parâmetros hematológicos, ganho de peso e qualidade da carcaça. **Arquivos da Faculdade de Veterinária, UFRGS**, v 29, n. 2, p. 113-121, 2001.

KNUTSON, M.D. et al, Both iron deficiency and daily iron supplements increase lipid peroxidations in rats. *Journal of nutrition*, v.130, n.3, p.621-628, 2000.

MELLOR D.J.; STAFFORD, K.J. Animal welfare implications of neonatal mortality and morbidity in farm animals. **The Veterinary Journal**, v.168, p.118-133, 2004.

NOCEK, J.E. et al The effect of trace mineral fortification level and source on performance of dairy cattle. **Journal Dairy Science**, v.89, p.2679-2693, 2006.

NRC – NATIONAL RESEARCH COUNCIL **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7th. Ed., National Academy Press: Washington D.C., 2001. 381p.

OHKAWA, H et al. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Anal Biochemistry**, v.95, p.351-358, 1979.

ORTOLANI, E.L. Macro e microelementos. In: SPINOSA, H.S.; GÓRNIAK, S.L.; BERNARDI, M.M. **Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária**, 2002. p.641-651.

OATS, P.S. The role of hepcidin and ferroportin in iron absorption. **Histology and histopathology**, v.22, p.791-804, 2007.

RIEGEL R.E. Radicais Livres. In: _____ **Bioquímica**. 3. ed. São Leopoldo: Unisinos, 2002, p.507-536.

ROBERTS, F.H.S.; O'SULLIVAN, P.J. Methods for eggs counts and larval cultures for strongyles infecting the gastrointestinal tract of cattle. **Australian Journal Agriculture Research**, v.1, n.1, p.99-102, 1950.

ROCHA, R.X., et al. Dextran iron in anemic lambs: effects on reticulocytosis and free radical production. **Ciência Rural**, v.37, n.5, p.1344-1348, 2007.

SUN, M, ZIGMAN, S. An improved spectrophotometric assay for superoxide dismutase based on epinephrine autoxidation. **Anal Biochemistry.**, v.90, p.81-89, 1978.

SUTTLE, N.F. The interactions between copper, molybdenum, and sulphur in ruminant nutrition. **Annual Veterinary Nutrition**, v.11, p.121-140, 1991.

VAN DER A., D.L., et al. Dietary haem iron and coronary heart disease in women. **European Heart Journal**, v.26, p.257-262, 2005.

VIANA, J.G.A.; SOUZA, R.S. Comportamento dos preços dos produtos derivados da ovinocultura no Rio Grande do Sul no período de 1973 a 2005. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 1, p. 191-199, 2007.

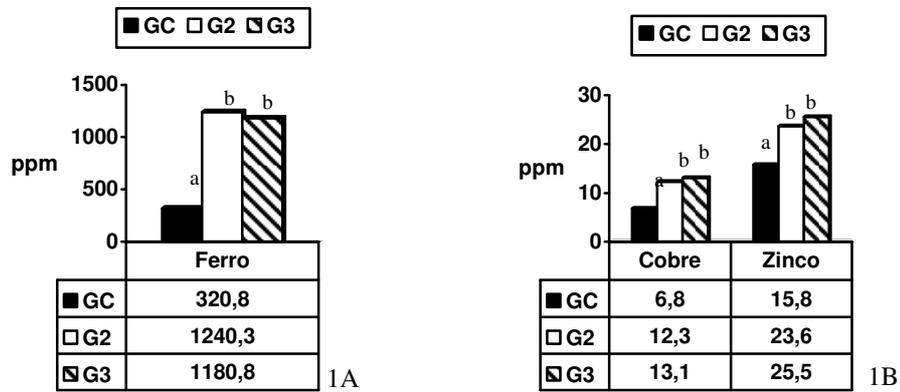


Gráfico 1 – Excreção fecal de ferro (1A), zinco e cobre (1B) em cordeiros suplementados com ferro oral na forma ferrosa (G2), forma férrica (G3) e grupo controle (GC) mantidos em gaiola metabólica, Santa Maria, 2010.

^{ab} Letras diferentes indicam diferença estatística entre os grupos.

Tabela 1. Média \pm desvio padrão de Eritrócitos, Hematócrito (Ht), Hemoglobina (Hb), Ferro Sérico (Fe), Cobre plasmático (Cu), Zinco plasmático (Zn) em cordeiros suplementados com ferro oral na forma ferrosa (G2), forma férrica (G3) e grupo controle (GC) em cada momento experimental, Santa Maria, 2010:

		Hematócrito (%)	Eritrócitos ($n^{\circ} \times 10^6 \mu\text{L}$)	Hemoglobina (g/dl)	Fe ⁺² ($\mu\text{g/dl}$)	Cu ⁺¹ ($\mu\text{mol/L}$)	Zn ($\mu\text{g/dl}$)
Dia 0	GC	16,0 \pm 1,2 ^a	4,2 \pm 0,7 ^a	5,0 \pm 0,2 ^a	171,1 \pm 12,0 ^a	8,3 \pm 0,8 ^a	32,1 \pm 1,7 ^a
	G2	15,6 \pm 0,8 ^a	3,9 \pm 1,1 ^a	5,2 \pm 0,8 ^a	183,8 \pm 8,0 ^a	8,3 \pm 1,6 ^a	27,4 \pm 0,9 ^a
	G3	16,1 \pm 1,1 ^a	4,0 \pm 0,4 ^a	5,5 \pm 1,1 ^a	176,3 \pm 11,2 ^a	8,9 \pm 0,8 ^a	29,9 \pm 1,1 ^a
Dia 7	GC	16,2 \pm 0,9 ^a	4,3 \pm 0,5 ^a	5,8 \pm 0,7 ^a	217,6 \pm 7,6 ^a	9,7 \pm 1,5 ^a	34,4 \pm 0,6 ^a
	G2	15,8 \pm 0,6 ^a	4,1 \pm 1,2 ^a	5,9 \pm 1,3 ^a	195 \pm 12,3 ^a	8,3 \pm 0,6 ^a	27,2 \pm 0,4 ^a
	G3	17,0 \pm 1,0 ^a	4,4 \pm 1,4 ^a	5,7 \pm 0,8 ^a	198,1 \pm 8,0 ^a	9,1 \pm 1,4 ^a	29,4 \pm 1,3 ^a
Dia 14	GC	16,2 \pm 0,8 ^a	4,1 \pm 1,3 ^a	5,7 \pm 1,2 ^a	203,2 \pm 11,9 ^a	9,6 \pm 0,9 ^a	32,0 \pm 1,5 ^a
	G2	16,4 \pm 1,3 ^a	4,7 \pm 0,9 ^a	5,6 \pm 0,8 ^a	207,6 \pm 7,5 ^a	8,6 \pm 1,3 ^a	26,8 \pm 0,7 ^a
	G3	17,2 \pm 0,7 ^a	4,5 \pm 1,2 ^a	6,0 \pm 0,4 ^a	201 \pm 11,1 ^a	8,5 \pm 0,7 ^a	27,6 \pm 1,3 ^a
Dia 21	GC	18,1 \pm 1,1 ^a	4,7 \pm 1,6 ^a	6,0 \pm 1,1 ^a	206,7 \pm 9,0 ^a	9,8 \pm 1,4 ^a	32,8 \pm 0,8 ^a
	G2	19,0 \pm 0,9 ^a	4,6 \pm 0,7 ^a	6,3 \pm 0,6 ^a	209 \pm 13,4 ^a	7,6 \pm 0,6 ^b	23,9 \pm 1,2 ^b
	G3	19,3 \pm 1,4 ^a	5,0 \pm 1,3 ^a	6,4 \pm 0,3 ^a	203,6 \pm 11,7 ^a	7,4 \pm 1,3 ^b	22,3 \pm 1,4 ^b
Dia 28	GC	21,0 \pm 0,7 ^a	5,1 \pm 1,1 ^a	7,5 \pm 0,5 ^a	210,1 \pm 8,9 ^a	9,4 \pm 0,8 ^a	32,6 \pm 0,9 ^a
	G2	22,3 \pm 1,5 ^a	4,9 \pm 0,8 ^a	7,0 \pm 1,3 ^a	199,8 \pm 13,7 ^a	7,2 \pm 1,6 ^b	21,4 \pm 0,8 ^b
	G3	20,0 \pm 0,5 ^a	5,3 \pm 1,4 ^a	6,8 \pm 0,2 ^a	205,4 \pm 8,4 ^a	6,9 \pm 0,9 ^b	20,0 \pm 1,5 ^b

^{ab} Letras diferentes indicam diferença estatística em cada momento experimental entre os grupos.

Tabela 2 - Média \pm desvio padrão de Grupamentos Tióis não protéicos (NPTH), Superóxido Dismutase (SOD) e Espécies Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) em cordeiros suplementados com ferro oral na forma ferrosa (G2), forma férrica (G3) e grupo controle (GC) em cada momento experimental, Santa Maria, 2010:

		TBARS (nmol MDA/g Hb)	SOD (UI/g Hb)	NPTH (nmol/L sg total)
Dia 0	GC	2,4 \pm 0,3 ^a	0,38 \pm 0,03 ^a	1,64 \pm 0,02 ^a
	G2	2,6 \pm 0,4 ^a	0,35 \pm 0,06 ^a	1,75 \pm 0,04 ^a
	G3	2,4 \pm 0,6 ^a	0,40 \pm 0,02 ^a	1,45 \pm 0,03 ^a
Dia 7	GC	2,1 \pm 0,4 ^a	0,34 \pm 0,03 ^a	1,74 \pm 0,04 ^a
	G2	2,2 \pm 0,3 ^a	0,36 \pm 0,04 ^a	1,68 \pm 0,03 ^a
	G3	2,4 \pm 0,3 ^a	0,36 \pm 0,05 ^a	1,46 \pm 0,05 ^a
Dia 14	GC	2,0 \pm 0,5 ^a	0,35 \pm 0,06 ^a	1,67 \pm 0,03 ^a
	G2	2,3 \pm 0,3 ^a	0,34 \pm 0,03 ^a	1,56 \pm 0,06 ^a
	G3	2,1 \pm 0,6 ^a	0,31 \pm 0,02 ^a	1,58 \pm 0,05 ^a
Dia 21	GC	1,9 \pm 0,4 ^a	0,34 \pm 0,03 ^a	1,63 \pm 0,03 ^a
	G2	2,1 \pm 0,2 ^a	0,31 \pm 0,02 ^a	1,1 \pm 0,02 ^b
	G3	2,2 \pm 0,4 ^a	0,32 \pm 0,04 ^a	0,9 \pm 0,07 ^b
Dia 28	GC	2,1 \pm 0,3 ^a	0,34 \pm 0,06 ^a	1,66 \pm 0,03 ^a
	G2	3,6 \pm 0,4 ^b	0,21 \pm 0,04 ^b	1,0 \pm 0,05 ^b
	G3	3,4 \pm 0,3 ^b	0,19 \pm 0,06 ^b	0,9 \pm 0,04 ^b

^{ab} Letras diferentes indicam diferença estatística em cada momento experimental entre os grupos.

Tabela 3 – Valores de OPG (ovos por grama de fezes) em cordeiros suplementados com ferro oral na forma ferrosa (G2), forma férrica (G3) e grupo controle (GC) em cada momento experimental, Santa Maria, 2010:

	Dia 0	Dia 7	Dia 14	Dia 21	Dia 28
GC	3350 ± 1380 ^a	3990 ± 1225 ^a	4230 ± 1255 ^a	4050 ± 1260 ^a	3850 ± 1310 ^a
G2	4260 ± 1187 ^a	3650 ± 1070 ^a	7150 ± 1330 ^a	4150 ± 1300 ^a	4350 ± 1460 ^a
G3	4150 ± 1100 ^a	3850 ± 1375 ^a	4450 ± 1045 ^a	3790 ± 1255 ^a	3900 ± 1395 ^a

^a Letras iguais indicam que não houve diferença estatística entre grupos em cada momento experimental.

CAPÍTULO 2

TRABALHO A SER ENVIADO PARA PUBLICAÇÃO

**DESEMPENHO, FUNÇÃO HEPÁTICA E HEMOGRAMA DE
CORDEIROS NATURALMENTE INFECTADOS POR HELMINTOS
GASTRINTESTINAIS SUPLEMENTADOS COM FERRO ORAL OU
PARENTERAL**

Ricardo Xavier da Rocha, Marcelo Cecim

CIÊNCIA RURAL, 2010

Desempenho, função hepática e hemograma de cordeiros naturalmente infectados por helmintos gastrintestinais suplementados com ferro oral ou parenteral

Performance, hepatic function and hemogram of lambs naturally infected by gastrointestinal helminths supplemented with oral and parenteral iron

Ricardo Xavier da Rocha, Marcelo Cecim

RESUMO

Entre os microminerais, o ferro exerce um papel importante na eritropoiese e metabolismo energético. Entretanto, o acúmulo pode causar danos principalmente nos locais de depósito. Desta forma, tanto deficiência como excesso podem causar morte celular. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar os parâmetros hematológicos, ganho de peso e função hepática em cordeiros anêmicos naturalmente infectados por helmintos gastrintestinais suplementados com ferro oral ou parenteral. Foram utilizados 27 cordeiros com idade entre 8 e 10 meses com anemia verminótica alocados em três grupos experimentais; Grupo controle (GC) n= 9, Grupo Sulfato ferroso (G2) n= 9 e Grupo Ferro Dextrano (G3) n= 9. Os animais do G2 receberam via oral diariamente 1 grama de sulfato ferroso (Fe^{+2}), equivalente a 200 miligramas de ferro, os animais do G3 receberam duas aplicações de 25mg/kg/p.v. de ferro dextrano IM com intervalo de sete dias, a primeira no dia zero e a segunda no dia sete do experimento, enquanto que os animais do GC não receberam tratamento. As coletas de dados foram realizadas nos dias 0, 7, 14 e 21 do experimento. Os níveis de ferro sérico no G3 foram superiores quando comparado aos GC e G2 nos dias 7 e 14 ($P<0,05$). Em relação aos parâmetros de células vermelhas, o G3 apresentou uma melhora significativa ($P<0,05$) em

¹ Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade federal de Santa Maria (UFSM), 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil. aluno do

^{II} Departamento de Clínica de Grandes Animais, Hospital Veterinário, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: mcecim@smail.ufsm.br. Autor para correspondência

comparação aos GC e G2 nos dias 7, 14 e 21. Os níveis de ferro hepático no G3 foram superiores em relação aos GC e G2, apesar de não alterar a mensuração de parâmetros de função hepática entre os grupos. Os níveis de OPG e leucócitos não apresentaram diferença estatística entre os grupos. Baseado nos resultados obtidos, conclui-se que a administração de duas doses de ferro dextrano parenteral eleva as concentrações séricas e hepáticas deste mineral, entretanto sem causar danos a este órgão e, aumenta a eritropoiese, enquanto que a administração oral diária de 200mg não tem influência sobre a série vermelha do sangue bem como sobre níveis séricos e hepáticos deste mineral. Ambos não exercem influência sobre série branca do sangue.

Palavras-chave: anemia, ovinos, microminerais.

ABSTRACT

Among the microminerals, iron has an important role in erythropoiesis and energetic metabolism. So, the overload can cause damage in the deposition places. Thus, both, deficiency and excess can cause cell death. The aim of this study was to assess the hematological parameters, weight gain and hepatic function in anemic lambs naturally infected with gastrointestinal helminths supplemented with oral and parenteral iron. It was used 27 lambs 8 to 10 months old with anemia due to worm infection divided in three experimental groups; Control Group (GC) n=9, Ferrous Sulphate Group (G2) n=9 and Iron Dextran Group (G3) n=9. The animals of G2 received 1 gram of Ferrous Sulphate (Fe^{+2}) orally daily, equivalent to 200 milligrams of iron, the animals of G3 received two intramuscular injections of 25 mg/kg/body weight of iron dextran at 7-day interval, the first one on day zero and the second one on day 7 of the experiment, whereas the GC received no treatment. The collected was done on day 0, 7, 14 and 21 of the experiment. The serum iron levels in the G3 was higher than GC and G2 on days 7 and 14 ($P<0,05$). In relation to red cells parameters, the G3 showed a significant improvement ($P<0,05$) compared to GC and G2 on days 7, 14 and 21.

The hepatic iron levels in the G3 were higher than GC and G2, although the measurement of hepatic function among the groups did not change. OPG and leucocytes levels showed no statistic difference among the groups. Based on these results, it was concluded that the administration of two doses of iron dextran increases serum and hepatic concentrations of this mineral, however without damage to this organ and increases the erythropoiesis, whereas daily oral administration of 200 mg has no influence over red blood cell serie, neither serum and hepatic levels of this mineral. Both of them do not influence white blood cell serie.

Key-words: anemia, sheep, microminerals.

INTRODUÇÃO

Os microminerais exercem grande importância para a nutrição animal, já que são constituintes de células e tecidos, possuindo ainda função de regulação de diversos processos biológicos vitais (MONTEIRO, 2006). Entre estes, o ferro exerce função como constituinte obrigatório da hemoglobina e no transporte de oxigênio (OATS, 2007). Desta forma, a suplementação deste mineral acarreta em aumento na eritropoiese em ovinos anêmicos (FISHER, 2008). Além disso, o mineral ferro está presente como centro de atividade ou como co-fator essencial das enzimas do ciclo do ácido tricarboxílico (Ciclo de Krebs), e tem papel importante na geração de ATP (Adenosina Tri-Fosfato) na cadeia respiratória por fazer parte das reações redox (DUNN et al., 2006), tornando assim, a regulação do metabolismo energético ferro-dependente (CONRAD et al., 1980).

De acordo com o citado por Hentze et al. (2004), tanto o excesso como as deficiências de ferro podem causar morte celular. Assim, os níveis deste mineral devem ser controlados. Este duplo desafio para evitar a deficiência e o excesso requer distintos mecanismos homeostáticos celular e tecidual para a regulação deste mineral.

O principal problema relacionado à deficiência de ferro, segundo descrito por Beard et al. (1997), é a anemia caracterizada pelos baixos níveis de hemoglobina circulante associado ao baixo desempenho produtivo em função do reduzido ganho de peso. Em contrapartida, o excesso de ferro no organismo pode apresentar efeitos tóxicos através da geração de radicais intermediários ricos em oxigênio, causando danos irreparáveis a membrana lipídica celular em um evento chamado de estresse oxidativo. De acordo com Puntarulo (2005), este fato pode ocorrer no caso de aplicações injetáveis de ferro dextrano em leitões, demonstrado também por Rocha et al. (2007) suplementando altas doses de ferro dextrano em cordeiros anêmicos.

Outro fator ligado à toxicidade do ferro é a lesão causada nos seus locais de depósito (DUNN et al., 2006). Segundo Papanikolaou e Pantopoulos (2005), esse mineral é estocado nos locais de depósito ligados à ferritina ou hemossiderina. De acordo com estes autores, o ferro é estocado na medula óssea, baço e principalmente no fígado. Desta forma, o excesso de ferro causa danos às membranas celulares podendo levar a insuficiência hepática (MONTEIRO, 2006).

Os testes bioquímicos específicos para determinar função hepática dividem-se em quatro grupos: os testes indicativos de lesão hepatocelular, representados pela aspartato amino transferase (AST) e alanina amino transferase (ALT); aqueles que indicam colestase, representados pela gama glutamil transferase (GGT) e fosfatase alcalina (FA); os que avaliam a síntese hepática, que são a albumina, uréia sérica e fatores de coagulação e também os que avaliam o armazenamento hepático através da dosagem de bilirrubina e ácidos biliares (DIAL, 1995).

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar os parâmetros hematológicos, ganho de peso e função hepática em cordeiros naturalmente infectados por helmintos gastrintestinais suplementados com ferro oral ou parenteral.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 27 cordeiros com idade entre 8 e 10 meses. Os animais no dia zero do experimento apresentaram hematócrito entre 20 e 22%. Foram formados três grupos; Grupo controle (GC) n= 9, Grupo Sulfato ferroso (G2) n= 9 e Grupo Ferro Dextrano (G3) n= 9. Os animais do G2 receberam via oral diariamente 1 grama de sulfato ferroso (Fe^{+2}), equivalente a 200 miligramas de ferro, os animais do G3 receberam duas aplicações de 25mg/kg/p.v. de ferro dextrano IM com intervalo de sete dias, a primeira no dia zero e a segunda no dia sete do experimento, enquanto que os animais do GC não receberam tratamento. Os animais foram mantidos em baias no sistema de cama sobreposta com água *ad libitum* e a alimentação baseada em feno de alfafa (*Medicago sativa*).

As coletas de sangue, fezes e pesagem dos animais foram realizadas nos dias 0, 7, 14 e 21 do experimento. As coletas foram feitas a partir de venopunção da jugular após anti-sepsia no local de punção. Avaliaram-se os níveis séricos de ferro através de *kit* comercial (Labtes, Belo Horizonte, MG, Brasil) A mensuração de GGT e AST foi realizada pelo método cinético enzimático, enquanto que os resultados de albumina foram obtidos através da técnica do verde de bromocresol (HILL, 1985).

A concentração de ferro hepático foi conseguida pela técnica descrita por Chapman e Pratt (1961) através de espectrofotometria de absorção atômica, utilizando 1g de tecido hepático precipitado em ácido nítrico. As avaliações dos parâmetros sanguíneos (hematócrito, contagem de eritrócitos, hemoglobina e total de leucócitos) foram feitas através do método descrito por Jain et al. (2006). Enquanto que a contagem de ovos por grama de fezes, OPG, foi obtido individualmente pela técnica de Gordon e Whitlock (1939) nos quatro momentos experimentais. No dia zero também foi realizado cultura de fezes e identificação de larvas (ROBERTS e O'SULLIVAN, 1950).

A estatística constou de uma análise de variância ANOVA, sendo a comparação entre as médias feita pelo teste “t” de Student. Os cálculos foram processados no programa “Graphpad Instat”.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A quantidade de ferro sérico foi superior estatisticamente no G3 ($P < 0,05$) quando comparado aos GC e G2 nos dias 7 e 14 do experimento e não apresentando diferença entre os grupos nos dias zero e 21. Este aumento sanguíneo deste mineral no G3 refere-se à aplicação de duas doses de ferro dextrano neste grupo. Segundo Gonzáles (2000), o pico de absorção do ferro em dextrose, em torno de 60%, ocorre nas primeiras 72 horas após a aplicação. Rocha et al. (2007), mostraram uma elevação deste mineral no sangue de cordeiros na primeira semana após aplicação de ferro dextrano, com redução a partir da segunda semana. Desta forma, a segunda dose deste mineral neste trabalho manteve um período maior de concentrações elevadas de ferro sérico. Em relação ao G2, não houve elevação dos valores de ferro sérico devido ao sistema de homeostasia deste mineral, onde a absorção duodenal e a excreção fecal são reguladas pela necessidade do organismo em relação ao ferro (OATS, 2007) e estes não apresentavam anemia ferropriva (Tabela 1).

Na avaliação dos parâmetros de células vermelhas do sangue não houve diferença significativa entre os GC e G2, enquanto que o G3 apresentou uma melhora significativa ($P < 0,05$) nos valores de hematócrito, hemoglobina e contagem de eritrócitos nos dias 7, 14 e 21 do experimento (Tabela 1). Segundo o que relata School et al. (2000), a elevação dos níveis de eritropoietina ocorre quando a concentração de hemoglobina decresce. A eritropoietina estimula a proliferação da medula óssea que junto com um aporte suficiente de ferro aumenta a formação de células vermelhas. Este aumento na resposta medular ocorre

devido a quantidade de ferro liberado para o eritrócito imaturo é diretamente dependente da concentração do ferro sérico, o que é ocasionado pela suplementação com este mineral.

O resultado da cultura de fezes e identificação de larvas demonstrou a presença de parasitas do gênero *Haemonchus* sp (90%), *Trichostrongylus* sp. (5%), *Cooperia* sp. (3%) e *Ostertagia* sp. (2%), concordando com Katiki et al. (2006), que citam *H. contortus* como o nematóide mais prevalente e patogênico dos ovinos no Brasil. Os valores de OPG não diferiram estatisticamente entre os três grupos nos quatro momentos experimentais (Tabela 3). Esta suplementação de ferro apresentando melhora na resposta eritropoiética pode aumentar o número de animais resilientes no rebanho. Segundo Amarante e Amarante (2003), estes animais são parasitados, porém não apresentam redução no desempenho produtivo, sendo assim, responsáveis pela manutenção da refugia, ou seja, a população de parasitas sensíveis na pastagem.

De acordo com Hershko (1993), o ferro também é essencial para o crescimento da maioria das bactérias patogênicas para o organismo. Estes germes patogênicos produzem compostos próprios para captação e ligação do ferro em suas membranas, os sideróforos, competindo assim com a proteína de transporte deste mineral no organismo, a transferrina. Aceita-se que, *in vivo*, a fonte de ferro para os sideróforos é a transferrina, portanto um aumento na concentração desta proteína possibilitaria multiplicação bacteriana e conseqüentemente instalação de um processo infeccioso (BROCK, 1986). Segundo o que descreve Chau et al. (1992), na hemocromatose e na sobrecarga de ferro aumentam-se os níveis sanguíneos de transferrina, tornando o ferro mais acessível à bactéria, favorecendo sua multiplicação. Entretanto, não houve diferença estatística entre os grupos na avaliação da contagem total de leucócitos em nenhum momento experimental (Tabela 1) ($P > 0,05$), indicando que não houve a instalação de um processo infeccioso.

Em relação aos estoques de ferro, os níveis hepáticos deste mineral no G3 foram superiores estatisticamente ($P < 0,05$) aos do GC e G2. De acordo com Tokarnia et al. (1999), os níveis de ferro hepático para ovinos devem ficar entre 131-180ppm. Os níveis mensurados para os GC, G2 e G3 foram $173,4 \pm 5,3$; $156,8 \pm 7,8$ e $803,4 \pm 9,3$ ppm, respectivamente (Gráfico 1). No entanto, esta elevação nos níveis de ferro hepático no G3 não resultou em alterações funcionais neste órgão. De acordo com Puntarulo (2005), doses maciças de ferro em dextrose podem ocasionar danos irreparáveis na membrana lipídica e resultar em lesões graves no coração e principalmente fígado (HOFFBRAND et al., 2004). Porém, de acordo com Papanikolaou e Pantopoulos (2005), para se observar lesões nestes órgãos, a concentração precisa ser vinte vezes acima do fisiológico. A comprovação do não comprometimento do fígado nesta dose se dá pela avaliação dos testes bioquímicos de síntese e de função deste órgão, onde não houve diferença entre os grupos para os valores de albumina, AST e GGT (Tabela 2).

McDowell (1992) cita que animais com deficiência moderada de ferro apresentam velocidade de ganho de peso reduzida. Isto ocorre pela redução da atividade de enzimas ferro dependentes presentes no ciclo do ácido tricarboxílico e com isso aumenta-se a glicólise anaeróbica e a reciclagem do lactato, conseqüentemente levando a uma utilização ineficaz da glicose (UNDERWOOD e SUTTLE, 1999). Mesmo assim, não houve efeito supra fisiológico sobre o ganho de peso ($P > 0,05$) nos animais do G3 que apresentaram níveis séricos e hepáticos de ferro mais elevados quando comparado aos demais grupos (Tabela 1).

CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos, conclui-se que a administração de duas doses de ferro dextrano via parenteral eleva as concentrações séricas e hepáticas deste mineral, entretanto sem causar danos a este órgão e, aumenta a eritropoiese, enquanto que a

administração oral diária de 200mg não tem influência sobre os eritrócitos bem como sobre níveis séricos e hepáticos deste mineral. Ambos não exercem influência sobre a contagem de leucócitos. A suplementação de ferro nas doses deste trabalho no período de 21 dias não influencia no ganho de peso.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARANTE, AF.T.; AMARANTE, M.R.V. Breeding sheep for resistance to nematode infections. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v.2, p.147-161, 2003.

BEARD, J.L. et al. Iron metabolism: a comprehensive review. **Nutritional Review**, v.54, p.295-317, 1997.

BROCK, J H - Iron and the outcome of infection. **Brazilian Medical Journal**, v.293, p.518-520, 1986.

CHAPMAN, M.D.; PRATT, P.F. **Methods of analysis for soils, plants and waters**. University of California. Division of Agricultural Science, 1961, p.150-161.

CONRAD, J.H. et al. Iron, manganese, sodium and zinc interrelationship in a tropical soil, plant and animal system. In: World Conference on Animal Production, v.4, Buenos Aires. **Anais...**, 1980, p.48-53.

DIAL, S.M. Clinicopathologic evaluation of the liver. **The Veterinary Clinics of North America**, v. 25, p. 257-273, 1995.

DUNN, L.L., et al. Iron uptake and metabolism in the new millennium. **Trends in Cell Biology**, v.17, n.2, p.93-100, 2006.

FISHER, G.E.J. Micronutrients and Animal Nutrition and the link between the application of micronutrients to crops and animal health. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, v.39, p.221-223, 2008.

GONZÁLES, A.R. Anemias: tratamento farmacológico. **Bol Farmacoter Castilla La Mancha**, v.82, p.1-8, 2000.

GORDON, H.H.; WHITLOCK, H.V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal Council Scientific Industry Research**, v.12, p.50-52, 1939.

HENTZE, W.M. et al. Balancing acts: molecular control of mammalian iron metabolism. **Cell**, Heidelberg, v.117, p.285-297, 2004.

HERSHKO, C - Iron, infection and immune function, **Procedure Nutrition Soc.**, v.52, p.165-174, 1993.

HILL, P.G. The measurement of albumin in serum and plasma. **Animal Clinical Biochemistry**, v.22, p.565-578, 1985.

HOFFBRAND, A.V. et al. **Fundamentos em hematologia**. 4.ed. São Paulo: Artmed, 2004. 358p.

JAIN, N.C. et al. **Schalm's veterinary hematology**. 5.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 2006. 1344p.

KATIKI, L. et al. Alternativas de controle da verminose. In: CUNHA, E. A. et al. (Eds). VIII REUNIÃO TÉCNICA Produção Intensiva de Ovinos: Pastagem e Confinamento, 2006, São Paulo. **Anais...** Nova Odessa: Instituto de Zootecnia, 2006. (p. 95-114, CD-ROM).

McDOWELL, L. R.; **Minerals in animal and human nutrition**. Orlando: Academic Press, 1992.

MONTEIRO, D.P. **Utilização de um suplemento alimentar a base de ferro quelatado em substituição ao ferro dextrano na fase pré-inicial de vida dos leitões**. Curitiba: Universidade Federal do Paraná. 2006. Dissertação de Mestrado em ciências veterinárias. UFPR. Curitiba/PR. 2006.

OATS, P.S. The role of hepcidin and ferroportin in iron absorption. **Histology and histopathology**, v.22, p.791-804, 2007.

PAPANIKOLAOU, G.; PANTOPOULOS, K. Iron metabolism and toxicity. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v.202, p.199-211, 2005.

PUNTARULO, S. Iron oxidative stress and human health. **Medicine**, Buenos Aires, v.26, n.4-5, p.299-312, 2005.

ROBERTS, F.H.S.; O'SULLIVAN, P.J. Methods for eggs counts and larval cultures for strongyles infecting the gastrointestinal tract of cattle. **Australian Journal Agriculture Research**, v.1, n.1, p.99-102, 1950.

ROCHA, R.X., et al. Dextran iron in anemic lambs: effects on reticulocytosis and free radical production. **Ciência Rural**, v.37, n.5, p.1344-1348, 2007.

SHAU, H. et al. Modulation of natural killer and lymphokineactivated killer cell cyto toxicity by lactoferrin. **Journal Leukocytes Biology**, v.51, p.343-349, 1992.

SCHOLL, T.O et al. Folic acid: influence on the outcome of pregnancy. **American Journal Clinical Nutrition**; 71 (suppl) p.1295-1303, 2000.

TOKARNIA, C. H. et al. Deficiências e desequilíbrios minerais em bovinos e ovinos- revisão dos estudos realizados no Brasil de 1987 a 1998. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.19, n.2, p.47-62, 1999.

UNDERWOOD, E. J.; SUTTLE, N. F. **The mineral nutrition of livestock**. 3.ed. Wallingford: Cabi Publishing, 1999. 614 p.

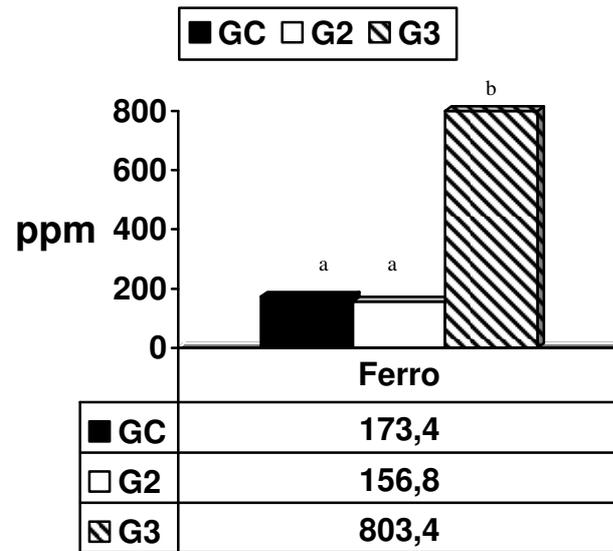


Gráfico 1 – Níveis hepáticos de ferro em cordeiros suplementados com ferro oral (G2) ou injetável (G3) e no grupo controle (GC) em cada grupo experimental, Santa Maria, 2010.

^{ab} Letras diferentes indicam diferença estatística entre os grupos.

Tabela 1. Média \pm desvio padrão de Eritrócitos, Hematócrito (Ht), Hemoglobina (Hb), Ferro Sérico (Fe^{+2}), Leucócitos Totais e peso vivo em cordeiros suplementados com ferro oral (G2) ou injetável (G3) e no grupo controle (GC) em cada momento experimental, Santa Maria, 2010:

		Hematócrito (%)	Eritrócitos ($n^{\circ} \times 10^6 \mu\text{L}$)	Hemoglobina (g/dl)	Fe^{+2} ($\mu\text{g/dl}$)	Leucócitos Totais ($/\mu\text{L}$)	Peso vivo (kg)
Dia 0	GC	21,4 \pm 0,7 ^a	4,8 \pm 0,2 ^a	6,8 \pm 0,3 ^a	202,4 \pm 7,4 ^a	7345 \pm 1230 ^a	27,4 \pm 4,1 ^a
	G2	20,3 \pm 0,4 ^a	5,2 \pm 0,4 ^a	6,5 \pm 0,4 ^a	196,5 \pm 9,3 ^a	6830 \pm 980 ^a	26,7 \pm 4,1 ^a
	G3	20,8 \pm 0,8 ^a	5,0 \pm 0,7 ^a	6,9 \pm 0,3 ^a	206, 2 \pm 8,6 ^a	7120 \pm 1430 ^a	28,9 \pm 3,2 ^a
Dia 7	GC	22,0 \pm 0,5 ^a	5,2 \pm 0,6 ^a	7,0 \pm 0,3 ^a	203,1 \pm 8,1 ^a	6980 \pm 1540 ^a	28,3 \pm 4,7 ^a
	G2	20,9 \pm 0,3 ^a	5,5 \pm 0,3 ^a	6,9 \pm 0,6 ^a	201,4 \pm 9,8 ^a	7010 \pm 1055 ^a	29,4 \pm 2,8 ^a
	G3	26,6 \pm 0,6 ^b	6,8 \pm 1,1 ^b	8,2 \pm 1,3 ^b	380,6 \pm 9,6 ^b	7225 \pm 1280 ^a	29,8 \pm 1,8 ^a
Dia 14	GC	22,7 \pm 0,3 ^a	5,6 \pm 1,0 ^a	7,3 \pm 0,8 ^a	210,7 \pm 8,2 ^a	7380 \pm 1670 ^a	30,7 \pm 2,0 ^a
	G2	22,1 \pm 0,4 ^a	5,8 \pm 0,8 ^a	7,7 \pm 0,4 ^a	214,6 \pm 9,7 ^a	7145 \pm 960 ^a	31,0 \pm 3,6 ^a
	G3	28,9 \pm 0,2 ^b	7,7 \pm 0,9 ^b	8,9 \pm 1,1 ^b	396,1 \pm 7,4 ^b	7175 \pm 1130 ^a	31,3 \pm 2,3 ^a
Dia 21	GC	23,4 \pm 0,3 ^a	6,1 \pm 0,7 ^a	7,4 \pm 0,5 ^a	220,3 \pm 7,2 ^a	7260 \pm 1145 ^a	31,4 \pm 3,4 ^a
	G2	23,0 \pm 0,4 ^a	6,4 \pm 0,6 ^a	7,9 \pm 0,2 ^a	217,4 \pm 9,3 ^a	7030 \pm 915 ^a	32,6 \pm 2,9 ^a
	G3	30,3 \pm 0,6 ^b	8,7 \pm 1,4 ^b	9,4 \pm 1,2 ^b	256,6 \pm 8,3 ^a	7210 \pm 1220 ^a	33,4 \pm 1,7 ^a

^{ab} Letras diferentes indicam diferença estatística em cada momento experimental entre os grupos.

Tabela 2. Média \pm desvio padrão de Aspartato amino transferase (AST), Gama glutamil transferase (GGT) e albumina em cordeiros suplementados com ferro oral (G2) ou injetável (G3) e no grupo controle (GC) em cada momento experimental, Santa Maria, 2010:

		AST (UI)	GGT (UI)	Albumina (g/L)
Dia 0	GC	60,3 \pm 2,1 ^a	30,8 \pm 2,9 ^a	26,3 \pm 0,3 ^a
	G2	58,7 \pm 2,6 ^a	25,7 \pm 3,2 ^a	25,7 \pm 0,8 ^a
	G3	62,1 \pm 1,8 ^a	33,2 \pm 1,9 ^a	26,8 \pm 0,4 ^a
Dia 7	GC	61,7 \pm 1,9 ^a	37,3 \pm 3,4 ^a	26,3 \pm 0,9 ^a
	G2	57,3 \pm 2,1 ^a	30,6 \pm 2,7 ^a	25,2 \pm 0,6 ^a
	G3	63,6 \pm 1,6 ^a	26,8 \pm 3,1 ^a	26,2 \pm 0,3 ^a
Dia 14	GC	59,2 \pm 0,7 ^a	34,2 \pm 2,7 ^a	27,1 \pm 1,1 ^a
	G2	62,1 \pm 1,3 ^a	27,8 \pm 3,6 ^a	27,7 \pm 0,9 ^a
	G3	61,8 \pm 1,4 ^a	29,3 \pm 1,8 ^a	26,8 \pm 0,4 ^a
Dia 21	GC	63,4 \pm 1,1 ^a	32,5 \pm 2,3 ^a	26,6 \pm 0,7 ^a
	G2	60,9 \pm 0,9 ^a	36,1 \pm 4,1 ^a	28,2 \pm 1,3 ^a
	G3	66,7 \pm 1,6 ^a	28,4 \pm 2,4 ^a	27,4 \pm 1,1 ^a

^{ab} Letras diferentes indicam diferença estatística em cada momento experimental entre os grupos.

Tabela 3 – Valores de OPG (ovos por grama de fezes) em cordeiros suplementados com ferro oral (G2) ou injetável (G3) e no grupo controle (GC) em cada momento experimental, Santa Maria, 2010:

	Dia 0	Dia 7	Dia 14	Dia 21
GC	4216 ± 830 ^a	6160 ± 1335 ^a	5720 ± 1315 ^a	5500 ± 1220 ^a
G2	3835 ± 1147 ^a	4750 ± 1100 ^a	4500 ± 1310 ^a	5300 ± 980 ^a
G3	4420 ± 970 ^a	4350 ± 990 ^a	5250 ± 1105 ^a	4900 ± 1015 ^a

^a Letras iguais indicam que não houve diferença estatística entre grupos em cada momento experimental.

CONCLUSÕES

- a suplementação de ferro parenteral apresenta melhor resposta sobre os parâmetros das células vermelhas sem comprometer função hepática, indicando assim, o uso deste mineral em doses maiores que o requerimento diário de forma sistêmica e não oral;
- a suplementação diária durante 21 dias de 200mg de ferro oral na forma ferrosa e duas aplicações intramusculares de ferro dextrano na dose de 25mg/kg/p.v. com intervalo de 7 dias não apresentam não apresenta efeito supra-fisiológico no desempenho de cordeiros, medidos pelo peso vivo;
- a suplementação diária de 200mg de ferro oral, tanto na forma ferrosa como férrica, comprometem a absorção de zinco e cobre comprometendo as funções destes minerais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARANTE, A.F.T. et al. Resistance of Santa Ines, Suffolk and Ile de France lambs to naturally acquired gastrointestinal nematode infections. **Veterinary Parasitology**, v.120, n.1, p.91-106, 2004.

AMES, B.N. et al. Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging. **Procedure National Academic Science**, v.90, p.7915-7922, 1993.

ANDERSON, G.J., et al. Regulation of systemic iron homestasic: how the body response to changes in iron demands. **Biometals**, 2007.

ANDERSON, N. Internal parasites of sheep and goats. In: COOP, I.E. (ed). Sheep and goat production. **World Animal Science**, C1. Amsterdam, Oxford, New York: Elsevier, p.175-191, 1982.

ASHMEAD, H.D. The chemistry of ferrous bisglycinate chelate. **Archives Latinoamerican Nutrition**, v.51 n.1, p.13-21, 2001.

BAKER, E.; MORGAN, H. Iron transport. In: BROCK, J.H., et al. **Iron metabolism in health and disease**. London, Saunders, 1994, p.63-95.

BEARD, J.L., et al. Iron metabolism: a comprehensive review. **Nutrition Review**, v.54, p.295-317, 1997.

BENZI, G. Aerobic performance and oxygen freeradicals. **The Journal Sports Medicine Physical Fitness**, v.33, p.205-222, 1993.

BREMNER I, BEATTIE J.H. Copper and zinc metabolism in health and disease: speciation and interactions. **Procedure Nutritional Society**, v.54, p.489-499, 1995.

BROCK, J. H. Iron and the outcome of infection. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.293, p.518-520, 1986.

BONDAN, C. et al. Oxidative stress in the erythrocytes of cattle intoxicated with *Senecio* sp. **Veterinary Clinical Pathology**, v.34, n.4, p.353-357, 2005.

CAR, B.D. Erythropoiesis and erythrokinetics. In: FELDMAN, B. F. et al. **Schalm.s veterinary hematology** 5^a ed. Philadelphia: Lippinott Willians e Wilkins, 2000. cap.18, p.105-109.

CARLSON, G. P. Diseases of the hematopoietic and hemolymphatic systems. In: SMITH, B.P. **Large animal internal medicine**. 2^a ed. Saint Louis: Mosby, 1996. cap.35, p.1232-1233.

CERUTTI, P.A. Oxy-radicals and cancer. **Lancet**, London, v.344, n. 8926, p.862-863, 1994.

CHASTON, T. et al. Evidence for differential effects of hepcidin in macrophages and intestinal epithelial cells. **GUT**, v.57, p.374-382, 2008.

CHIHUAULAF, R.H., et al. Pathogenesis of oxidative stress: Consequences and evaluation in animal health. **Veterinaria México**, v.33, n.3, p.265-283. 2002.

COOK, J. The Nutritional Assesment of iron status. **Archives Latinoamerican Nutrition**, v.49, p.115-145, 1999.

COOK, D. J.; LYNCH, R .S. The liabilities of iron deficiency. **Blood**, v.68, p. 803-809, 1986.

COOP, R.L.; ANGUS, K.W. How helminthes affect sheep. **Practice**, v.3, n.4, p.4-11. 1981.

CRICHTON, R.R. et al. 2002. Molecular and cellular mechanisms of iron homeostasis and toxicity in mammalian cells. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v.91, p.9-18, 2002.

DIAL, S.M. Clinicopathologic evaluation of the liver. **The Veterinary Clinics of North America**, v. 25, p. 257-273, 1995.

DIMITRIOU, H. et al. Soluble transferrin receptor levels and soluble transferrin receptor/log ferritin index in the evaluation of erythropoietic status in childhood infections and malignancy. **Acta Paediatric**, v.89, p.1169-1173, 2000.

DONOVAN, A, et al. The ins and outs of iron homeostasis. **Physiology**. v.21, p.115-123, 2006.

DOTAN, Y. et al. Lipid peroxidation cannot be used as universal criterion of stress oxidative. **Progress in Lipid Research**, v.43, p.200-227, 2004.

DRÖGE, W. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiology Review**, v.82, p.47-95, 2002.

DUFOUR, D.R. Diagnosis and monitoring of hepatic injury. I. Performance characteristics of laboratory tests. **Clinical Chemistry**, v.46, n.12, p.2027-2049, 2000.

DUNCAN J.R.; PRASSE K.W. **Patologia Clínica Veterinária**. Rio de Janeiro. Editora Guanabara Koogan, 1982.

DUNN, J. Assessment of liver damage and dysfunction. **Practice**, v. 14, p. 193-200, 1992.

DUNN, L.L. et al. Iron uptake and metabolism in the new millennium. **Trends in Cell Biology**, v.17, n.2, p.93-100, 2006.

FABRIS, V. E. Morte e necrose celular. **Medicina**, Ribeirão Preto, v.25, p.143-152, 1991.

FAO. Food and Agriculture Organization. **Statistical Database – FAOSTAT/Agriculture**, 2009. Disponível em: <<http://www.fao.org.br>>. Acesso em: 20 jan. 2010.

FEELDERS, R.A. et al. Structure, function and clinical significance of transferrin receptors. **Clinical Chemistry Laboratory Medical**, v.37, p.1-10, 1999.

FERREIRA, M. et al. Cadeia Respiratória Mitocondrial - Aspectos Clínicos, Bioquímicos, Enzimáticos e Moleculares Associados ao Défice do Complexo I. **Arquivos de Medicina**, v.22, n.2, p.49-56, 2008.

FISHER, G.E.J. Micronutrients and Animal Nutrition and the link between the application of micronutrients to crops and animal health. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, v.39, p.221-223, 2008.

FLOREZ J. Farmacos antianemicos y factores de crecimiento hemopoyetico. In: FLOREZ J. **Farmacologia Humana**. 3. ed. Barcelona; Masson, p.981-90. 1997.

GALLEANO M, PUNTARULO S. Role of antioxidants on the erythrocytes resistance to lipid peroxidation after acute iron overloads in rats. **Biochemistry Biophysic Acta**;v.1271, n.2-3, p.321-326, 1995.

GANZ T. Heparin – a regulator of intestinal absorption and iron recycling by macrophages. **Best Practice Research Clinical Haematology**, v.18, p.171–182, 2005.

GATÉ, L. et al. Oxidative stress induced in pathologies: the role of antioxidants. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v.52, p.169-180, 1999.

GEOR, R. J.; WEISS, D. J. Drugs affecting the hematologic system of the performance horse. **Veterinary clinics North America: equine practice**, Philadelphia, v.9, n.2, p. 649-659, 1993.

HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants: a personal view. **Nutrition Reviews**, New York, v.52, n.8, p.253-265, 1994.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. **Free Radical in Biology and Medicine**. 2º ed. Oxford, University Press. 1989. 543pp

HARVEY, J. W. Metabolism erythrocyte. In: KANEKO, J.J. **Clinical biochemistry of domestic animals**. San Diego: Academic, 1989. p.187-194.

HAYS, V. W; SWENSON, M. J. Minerais.In: SWENSON, M.; REECE, W.O. **Dukes fisiologia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p.471-487.

HENRY, P.R., MILES, R.D. Interactions among the trace minerals. **Ciência Animal Brasileira**, v.1, n.2, p.95, 2000.

HENTZE, W.M. et al. Balancing acts: molecular control of mammalian iron metabolism. **Cell**, Heidelberg, v.117, p.285-297, 2004.

HERSHKO, C. Iron, infection and immune function, **Proceedings of the nutrition society**, v.52, p.165-174, 1993.

HILLMAN, R.S. Anemia ferropénica y otras anemias hipoproliferativas. In: FAUCI, A.S. et al. **Princípios de medicina interna**. 14.ed. Madri; Mcgray-Hill/Interamericana, 1998. p.729-737.

HÖER, N.F., et al. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutatona associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. **Química Nova**, v.24, n.1, p.112-119, 2000.

HOFFBRAND, A.V. et al. **Fundamentos em hematologia**. 4.ed. São Paulo: Artmed, 2004. 358p.

HOSTE, H. et al. Interactions between nutrition and gastrointestinal infections with parasitic nematodes in goats. **Small Ruminant Research**, v.60, n.1, p.141-151, 2005.

HUGHES, D.; KING, L.G. The diagnosis and management of acute liver failure in dog and cats. **The Veterinary Clinics of North America**, v. 25, p. 257-273, 1995.

HURTADO, E.K. et al. Early childhood anemia and mild or moderate mental retardation. **American Journal Clinical Nutrition**, p.69, p.115-119, 1999.

JACOB, M.J. The integrated antioxidants systems. **Nutritional Research**, v.15, n.4, p.755-782, 1985.

JACOB, R.A., et al. Utility of serum ferritin as a measure of iron deficiency in normal males undergoing repetitive phlebotomy. **Blood**, v.56, p.786-791, 1980.

JAIN, N.C. et al. **Schalm's veterinary hematology**. 5.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 2006. 1344p.

KNUTSON, M.D. et al, Both iron deficiency and daily iron supplements increase lipid peroxidations in rats. **Journal of nutrition**, v.130, n.3, p.621-628, 2000.

LARSEN, M. Biological control of nematode parasites in sheep. **Journal of Animal Science**, v.84, p.133-139, 2006.

LEVENSON, C.W.; TASSABEHJI, N.M. Iron and ageing: an introduction to iron regulatory mechanisms. **Ageing research reviews**, v.3, p.251-263, 2004.

MALIKIDES, N. et al. Haematological responses of repeated large volume blood collection in the horse. **Research in Veterinary Science**, v.68, n.3, p.275-278, 2000.

McDOWELL, L.R. et al. Mineral status comparisons in goats of Florida with emphasis on zinc deficiency. **Small Ruminant Research**, v.5, p.327-335, 1991.

MILLER, J.E.; HOROHOV, D.W. Immunological aspects of nematode parasite control in sheep. **Journal of Animal Science**, v.84, p.124-132, 2006.

MILMAN, N. Serum ferritin in Danes: studies of iron status from infancy to old age, during blood donation and pregnancy. **International Journal Hematology**, v.63, p.103-135, 1996.

MOIRAND, R. et al. A new syndrome of liver overload with normal transferrin saturation. **Lancet**, v.349, p.95-97, 1997.

MOLINA, M.R. El estrés oxidativo y el destino celular. **Revista Química Viva**. v.2, n.1. 2003.

MONTEIRO, D.P. **Utilização de um suplemento alimentar a base de ferro quelatado em substituição ao ferro dextrano na fase pré-inicial de vida dos leitões**. Curitiba: Universidade Federal do Paraná. 2006. Dissertação de Mestrado em ciências veterinárias. UFPR. Curitiba/PR. 2006.

NEMETH, E., et al. Hepcidin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II – acute phase protein. **Blood**, v.101, p.2461 - 2463, 2003.

NICOLEAS, G., et al. Hepcidin, a new iron regulatory peptide. **Blood Cells Molecular Disease**, v.29, p.327 – 335, 2002.

NOCEK, J.E. et al The effect of trace mineral fortification level and source on performance of dairy cattle. **Journal Dairy Science**, v.89, p.2679-2693, 2006.

NORDBERGER, J., ARNÉR, E.S.J. Reactive oxygen species, antioxidants and the mammalian thioredoxin system. **Free Radical Biology and Medicine**, v.31, n. 11, p. 1287-1312, 2001.

OATS, P.S. The role of hepcidin and ferroportin in iron absorption. **Histology and histopathology**, v.22, p.791-804, 2007.

ORTOLANI, E.L. Macro e microelementos. In: SPINOSA, H.S.; GÓRNIAK, S.L.; BERNARDI, M.M. **Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária**, 2002. p.641-651.

PADILHA, T. et al. Genética, a nova arma no controle de doenças. **Revista Balde Branco**, v.36, n.299, p.58, 2000.

PAPANIKOLAOU, G.; PANTOPOULOS, K. Iron metabolism and toxicity. **Toxicology and applied pharmacology**, v.202, p.199-211, 2005.

PETERS, T. Serum albumin: Recent progress in the understanding of its structure and biosynthesis. **Clinical Chemistry**, v.23, p.5-12, 1977.

PIERCY, R.J. et al. Erythroid hypoplasia and anemia following administration of recombinant human erythropoietin to two horses. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.212, n.2, p.244-247, 1998.

PRATT, D.S.; KAPLAN, M.M. Laboratory tests. In: SCHIFF, E.R. et al. **Diseases of the liver**. 8ªed., v.1, Philadelphia: Lippincott-Raven. 1999, p. 205-244.

RIEGEL R.E. Radicais Livres. In:_____ **Bioquímica**. 3. ed. São Leopoldo: Unisinos, 2002, p.507-536.

ROOB, J.M. et al. Vitamin E Attenuates Oxidative Stress Induced by Intravenous Iron in Patients on Hemodialysis. **Journal of the American Society of Nephrology**, v.11, n.3, p.539-549, 2000.

ROCHA, R.X., et al. Dextran iron in anemic lambs: effects on reticulocytosis and free radical production. **Ciência Rural**, v.37, n.5, p.1344-1348, 2007.

ROCHA, R.X., et al. Resposta eritrocitária em cordeiros com anemia verminótica suplementados com ferro associado ou não a vitamina B12. CONBRAVET, **Anais...**, Gramado-RS, 2008 (CD-ROOM).

SHAU, H. et al. Modulation of natural killer and lymphokineactivated killer cell cyto toxicity by lactoferrin. **Journal of Leukocyte Biology**, v.51, p.343-349, 1992.

SCHIMANSKI, I.L.M., et al. In vitro functional analysis of human ferroportin (FPN) and hemochromatosis – associated FPN mutations. **Blood**, v.105, p.4096 – 4102, 2005.

SCHIMMEL, M.; BAUER, G. Proapoptotic and redox-state related signaling of reactive oxygen species generated by transformed fibroblasts. **Oncogene**, v.21, p. 5886-5896, 2002.

SHILLS, M.E.; YOUNG, V. **Modern nutrition in health and disease**. 7^a ed. Philadelphia; Lea and Febiger, 1998.

SCHOOL, T.O et al. Folic acid: influence on the outcome of pregnancy. **American Journal Clinical Nutrition**; v.71, p.1295-1303, 2000.

SEYEMEN, O. et al. The effect of iron supplementation on GSH levels, GSH-Px, and SOD activities of erythrocytes in L-thyroxine administration. **Acta Medica Okayama**, v.51, n.3, p.129-133, 1997.

SIES, H. Strategies of antioxidant defence. Review. **European Journal of Biochemistry**, Berlin, v.215, n.2, p.213-219, 1993.

SILVA, A.O. et al. Conduta diagnóstica em pacientes com doenças hepatobiliar. In: DANI, R. **Gastroenterologia essencial**. 3^aed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006, p.515-524.

SILVA, M.M. et al. Efeito da verminose na resposta imune em caprinos. **Ciências Agrárias**, Londrina, v.23, n.1, p.15-21, 2002.

SOULSBY, E.J.L. The invasion of the immune response and immunological unresponsiveness: parasitic helminthes infection. **Immunology Letters**, v.16, p.315-320, 1987.

SUTTLE, N.F. The interactions between copper, molybdenum, and sulphur in ruminant nutrition. **Annual Veterinary Nutrition**, v.11, p.121-140, 1991.

VAN DER A., D.L., et al. Dietary haem iron and coronary heart disease in women. **European Heart Journal**, v.26, p.257-262, 2005.

TIANO, L., et al. Effect of three diaryl tellurides and an organoselenium compound in trout erythrocytes exposed to oxidative stress in vitro. **Mutat Research**, v.464, p.269-277, 2000.

UNDERWOOD, E. J.; SUTTLE, N. F. **The mineral nutrition of livestock**. 3.ed. Wallingford: Cabi Publishing, 1999. 614 p.

VANNUCCHI, H., et al. Effect of different dietary levels of vitamin E on lipid peroxidation in rats. **Archives Latinoamerican Nutritional**, v.47, p.34-37, 1997.

VIEIRA, L.S.; CAVALCANTE, A.C.R.; XIMENES, L.J.F. Epidemiologia e controle das principais parasitoses de caprinos nas regiões semi-áridas do Nordeste. Sobral: **Embrapa-CNPC**, p.50, 1997.

WICKENS, A.P. Agein and the free radical theory. **Respiration Physiology**, v.128, p.379-391, 2001.

WEISS, G. Pathogenesis and treatment of anaemia of chronic disease. **Blood Review**, v.16, n.2, p.87-96, 2002.

YAGI, K. Lipid peroxides and human diseases. **Chemistry and Physics of Lipids**, v.45, p.337-351, 1987.

YU, B.P. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. **Physiology Review**, v.74, p.139-161, 1994.