

Valores hematológicos e bioquímicos de camundongos imunossuprimidos BALB/c NUDE E C57BL/6 SCID

Haematological and Biochemical Values of Immunosuppressed BALB/c NUDE and C57BL/6 SCID Mice

Érika Almeida Praxedes, Muriel Magda Lustosa Pimentel, Fernanda Araujo dos Santos, Denilsa Pires Fernandes, Brenna de Sousa Barbosa, Parmênedes Dias de Brito, Ivana Cristina Nunes Gadelha Lelis, Michelly Fernandes de Macedo & Marcelo Barbosa Bezerra

ABSTRACT

Background: The emergence of the NUDE and SCID immunosuppressed mice lineages generated knowledge on various mechanisms of lymphocyte maturation and human autoimmune diseases. Information on haematological and biochemical parameters of these lineages is still scarce, making it impossible to infer homeostasis by comparing data, or to detect genetic influences on the parameters for these species. Haematological and biochemical tests were carried out on Balb/c NUDE and C57BL/6 SCID mice of both sexes, aiming to analyse the presence of genetic influence on possible variations of such parameters and to verify reference values for both lineages.

Materials, Methods & Results: One hundred and forty mice (*Mus musculus*) of the Balb/C NUDE and C57BL/6 SCID lineages were used in the present study. The animals were previously anesthetized, the blood collection procedure was performed by cardiac puncture and the samples were collected in the presence of heparin and intended for haematological and biochemical evaluation, under standardized conditions. The haematological evaluation consisted of red blood cell count, leukocyte counts, platelet counts, haematocrit, haemoglobin concentration, mean corpuscular volume (MCV), and mean corpuscular haemoglobin concentration (MCHC). The quantified biochemical parameters were: urea, creatinine, alanine aminotransaminase (ALT), aspartate aminotransaminase (AST) and alkaline phosphatase (ALP). While analysing the obtained data, it was possible to observe that only females presented divergences ($P < 0.05$) in the red blood cell series, in haemoglobin and in mean haemoglobin concentration (MCH). Regarding the analysis of the white blood cell series, females only presented differences ($P < 0.05$) in the leukocyte count. For males, there were variations ($P < 0.05$) in the counts of leukocytes, eosinophils, lymphocytes and neutrophils. Biochemical tests revealed significant variations ($P < 0.05$) in ALP and creatinine in females, and ALT, AST and ALP in males.

Discussion: As a result of variations due to factors such as genetics, age, diet, sex and environmental conditions, it is of great importance that each research group establishes its own hematological and biochemical reference values for the mice strain used. In this way, possible variations and their causes can be determined, aiding in evaluations of homeostatic and pathological conditions for these animals, as well as their choice and analysis of results obtained in experimental procedures. Thus, the differences found only in females for parameters of the red blood cell series may be due to gene mutations responsible for haematopoiesis or the genetic background. Furthermore, in case of divergences found in the leukocyte parameters, females and males can present different immune responses due to their sex hormones, and females apparently have better performance in these responses. Regarding the other differences found in the leukogram parameters only in males, higher values in the NUDE lineage was attributed to possible stress situations increased by the genetic hormonal factors of the lineage. In addition, a correlation with anaesthetic administration is suggested regarding the variations found in the biochemical parameters, added to the stress generated at the muscular level. In conclusion, this study has presented pioneer values which enable expanding the still scarce knowledge database on immunosuppressed animals, aiding in future studies conducted with the Balb/c NUDE and C57BL/6 SCID lineages.

Keywords: biochemistry, blood, hematology, immunosuppressed mice.

Descritores: bioquímica, sangue, hematologia, camundongos imunossuprimidos.

DOI: 10.22456/1679-9216.86472

Received: 25 April 2018

Accepted: 5 September 2018

Published: 29 October 2018

Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró, RN, Brazil. CORRESPONDENCE: É.A. Praxedes [erikaalmeida-@hotmail.com - Tel.: +55 (84) 3317-8200]. Av. Francisco Mota n. 572. Bairro Alto de São Manoel. CEP 59625-900 Mossoró, RN, Brazil.

INTRODUÇÃO

Desde o seu surgimento, as linhagens de camundongos imunossuprimidos aumentaram largamente a gama de trabalhos que podem se utilizar dessa espécie. Em decorrência da sua não rejeição a células e tecidos provenientes de outras espécies, estes animais são úteis em estudos como: oncogênese, tanto na evolução de tumores quanto possibilitando testes farmacológicos [15,28,30], xenotransplantes de tecidos gonadais, auxiliando como metodologias alternativas de preservação de tecidos [26], estudos de maturação linfocitária [14], bem como na compreensão de doenças autoimunes humanas [21].

Atualmente existem diversas linhagens de camundongos imunossuprimidos, dentre estas encontram-se as Balb/c NUDE E C57BL/6 SCID. Em literatura encontram-se disponíveis estudos que tratam do perfil imunológico desses animais [7,17], no entanto, no que se refere a bioquímica e hematologia ainda há insuficiência de dados, levando a não disponibilidade de parâmetros importantes na pré-seleção dos animais, na avaliação e observação dos resultados obtidos nos procedimentos experimentais, assim como na análise das modificações induzidas por processos patológicos [11,24].

Diante do exposto, o presente estudo objetivou verificar a existência de possíveis variações entre parâmetros de referência bioquímicos e hematológicos das referidas linhagens, Balb/c NUDE e C57BL/6 SCID de ambos os sexos, bem como estabelecer valores de referência ainda insuficientes na literatura para as mesmas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais experimentais

Foram utilizados 140 camundongos (*Mus musculus*) das linhagens Balb/C NUDE (n = 20 fêmeas e n = 50 machos) e C57BL/6 SCID (n = 20 fêmeas e n = 50 machos), adultos, saudáveis, pesando entre 20 a 40 gramas, mantidos em racks mini-isoladores¹ com pressão positiva. Durante todo o experimento os mesmos permaneceram nas caixas mini-isoladoras (20x15x13 cm) em número de 5, com livre acesso à água e ração² apropriada para a espécie, sob condições luminosas e de temperatura controladas (ciclo 14 h com iluminação; 10 h sem iluminação; 22 ± 2°C).

Coleta de sangue

Para que nenhum parâmetro sofresse variação todas as coletas foram realizadas no mesmo período. Inicialmente, os animais foram anestesiados com

2,2,2-tribromoetanol³ a 2,5%, na dose de 20 mL/kg (NUDE) e 18 mL/kg (SCID) de peso corpóreo por via intraperitoneal no quadrante lateral inferior direito. Após a anestesia geral, foi realizada a punção cardíaca de acordo com Hoff [13]. O volume total de sangue recuperado foi de aproximadamente 1000 µL. As amostras coletadas foram utilizadas para os procedimentos de avaliação dos parâmetros hematológicos e bioquímicos.

Avaliação de parâmetros hematológicos e bioquímicos

As amostras de sangue foram coletadas com anticoagulante (heparina) e então destinadas a avaliação hematológica completa e posteriormente bioquímica. A análise do hemograma incluiu contagens globais de hemácias, leucócitos e plaquetas, determinação do hematócrito e da concentração de hemoglobina. A partir dos valores obtidos para hemácias, hematócrito e hemoglobina, foram calculados os índices hematimétricos volume corpuscular médio (VCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM). As análises hematológicas foram realizadas com o auxílio do Analisador Automático Hematológico Veterinário ABC VET⁴. As contagens diferenciais de leucócitos foram realizadas em esfregaços sanguíneos corados com Panótico Rápido⁵, enumerando-se 100 células e estabelecendo-se as fórmulas leucocitárias relativas e absolutas. Os restantes das amostras sanguíneas foram mantidas a temperatura ambiente em microtubos previamente identificados e centrifugados⁶ a 1.400 x g, por 2 min a temperatura ambiente para obtenção do plasma. Todas as análises bioquímicas foram validadas e realizadas no Laboratório do Hospital Veterinário Dix Sept Rosado - UFERSA, por meio de espectrofotometria, utilizando-se o analisador bioquímico semi-automático Bioplus 2000⁷ e kit reagentes⁸. A avaliação do perfil renal e hepática foi determinada por meio da dosagem de ureia, creatinina, alanina aminotransferase (AST), aspartato aminotransferase (ALT), e fosfatase alcalina.

Análise estatística

Todos os parâmetros bioquímicos e hematológicos analisados foram expressos como valores médios e respectivos desvio-padrão (DP). Para realização da avaliação estatística foi realizado teste de Mann-Whitney com grau de significância de 5%.

RESULTADOS

Estão descritos nas Tabelas 1 e 4 os parâmetros hematológicos e bioquímicos de camundongos fêmeas

Tabela 1. Parâmetros hematológicos de camundongos fêmeas da linhagem Balb/c NUDE e C57BL/6 SCID.

Parâmetro	Unidade	Fêmeas Balb/c NUDE	Fêmeas C57BL/6 SCID
Hemácias	10 ⁶ /mm ³	7,64 ± 2,19 ^a	7,48 ± 2,73 ^a
Hematócrito	%	38,35 ± 3,10 ^a	39,95 ± 3,35 ^a
Hemoglobina	g/dL	12,58 ± 1,30 ^b	13,15 ± 0,88 ^a
VCM	fm ³	53,93 ± 14,51 ^a	61,17 ± 26,84 ^a
CHCM	%	32,43 ± 0,76 ^b	33,11 ± 1,45 ^a
Leucócitos	10 ³ /mm ³	1525 ± 471,98 ^a	915 ± 315,00 ^b
Eosinófilos	%	2,40 ± 1,70 ^a	3,10 ± 1,8 ^a
Monócitos	10 ³ /mm ³	50,60 ± 25,98 ^a	32,10 ± 13,7 ^a
Linfócitos	%	69,35 ± 14,82 ^a	71,65 ± 2,91 ^a
Basófilos	10 ³ /mm ³	1072,60 ± 398,31 ^a	656,28 ± 223,64 ^a
Neutrófilos	%	0,00 ^a	0,00 ^a
	%	21,95 ± 3,41 ^a	21,70 ± 2,36 ^a
Plaquetas	10 ³ /mm ³	336,63 ± 118,08 ^a	198,85 ± 78,66 ^a
	10 ³ /mm ³	450,70 ± 114,26 ^a	418,25 ± 78,31 ^a

a,b: letras diferentes na mesma linha indicam valores significativamente diferentes. Teste de Mann-Whitney ($P < 0,05$). VCM = Volume corpuscular médio; CHCM = Concentração de Hemoglobina Corpuscular médio.

Tabela 2. Parâmetros hematológicos de camundongos machos da linhagem Balb/c NUDE e C57BL/6 SCID.

Parâmetro	Unidade	Machos Balb/c NUDE	Machos C57BL/6 SCID
Hemácias	10 ⁶ /mm ³	43,12 ± 5,93 ^a	43,06 ± 4,32 ^a
Hematócrito	%	5,48 ± 1,94 ^a	6,13 ± 3,31 ^a
Hemoglobina	g/dL	13,95 ± 1,98 ^a	13,94 ± 1,41 ^a
VCM	fm ³	88,66 ± 31,77 ^a	83,99 ± 31,99 ^a
CHCM	%	32,23 ± 0,72 ^a	32,39 ± 1,00 ^a
Leucócitos	10 ³ /mm ³	2025 ± 1463,13 ^a	1369 ± 678,53 ^b
Eosinófilos	%	1,62 ± 1,24 ^a	2,54 ± 1,53 ^b
Monócitos	10 ³ /mm ³	33,33 ± 38,10 ^a	30,81 ± 18,83 ^b
Linfócitos	%	2,70 ± 1,18 ^a	2,98 ± 1,19 ^a
Basófilos	10 ³ /mm ³	55,97 ± 53,57 ^a	39,89 ± 25,01 ^a
Neutrófilos	%	69,62 ± 16,30 ^b	71,12 ± 3,65 ^a
Plaquetas	10 ³ /mm ³	1430,69 ± 1093,47 ^b	983,24 ± 514,74 ^a
	%	0,00 ^a	0,00 ^a
	%	22,46 ± 4,79 ^b	23,36 ± 3,26 ^a
	10 ³ /mm ³	455,21 ± 380,03 ^b	315,06 ± 149,47 ^a
	10 ³ /mm ³	481,72 ± 149,28 ^a	495,89 ± 140,67 ^a

a,b: letras diferentes na mesma linha indicam valores significativamente diferentes. Teste de Mann-Whitney ($P < 0,05$). VCM = Volume corpuscular médio; CHCM = Concentração de Hemoglobina Corpuscular médio.

Tabela 3. Parâmetros bioquímicos de camundongos fêmeas da linhagem Balb/c NUDE e C57BL/6 SCID.

Parâmetro	Unidade	Fêmeas Balb/c NUDE	Fêmeas C57BL/6 SCID
ALT	u/L	138,26 ± 48,09 ^a	140,2 ± 28,80 ^a
AST	u/L	56,26 ± 54,34 ^a	73,5 ± 38,00 ^a
FAL	u/L	218,07 ± 69,97 ^a	165,5 ± 24,50 ^b
Ureia	µg/dL	60,75 ± 13,17 ^a	60,4 ± 8,70 ^a
Creatinina	µg/dL	0,48 ± 0,10 ^a	0,36 ± 0,10 ^b

a,b: letras diferentes na mesma linha indicam valores significativamente diferentes. Teste de Mann-Whitney ($P < 0,05$). ALT = Alanina aminotransferase; AST = Aspartato transaminase; FAL = Fosfatase alcalina.

Tabela 4. Parâmetros bioquímicos de camundongos machos da linhagem Balb/c NUDE e C57BL/6 SCID.

Parâmetro	Unidade	Machos Balb/c NUDE	Machos C57BL/6 SCID
ALT	u/L	134,56 ± 29,69 ^a	105,36 ± 39,07 ^b
AST	u/L	73,86 ± 55,17 ^b	149,38 ± 45,32 ^a
FAL	u/L	217,42 ± 64,28 ^a	187,11 ± 46,15 ^b
Ureia	µg/dL	53,00 ± 17,21 ^a	52,36 ± 16,47 ^a
Creatinina	µg/dL	0,49 ± 0,12 ^a	0,46 ± 0,12 ^a

a,b: letras diferentes na mesma linha indicam valores significativamente diferentes. Teste de Mann-Whitney ($P < 0,05$). ALT = Alanina aminotransferase; AST = Aspartato transaminase; FAL = Fosfatase alcalina.

das linhagens Balb/c NUDE e C57BL/6 SCID, respectivamente e nas Tabelas 2 e 3 observam-se os parâmetros hematológicos e bioquímicos de camundongos machos das linhagens Balb/c NUDE e C57BL/6 SCID.

DISCUSSÃO

A literatura apresenta uma vasta gama de trabalhos mostrando valores hematológicos e bioquímicos para algumas espécies de roedores, como ratos, camundongos e hamsters [3,5,10], porém é válido ressaltar que variações podem se apresentar devido a fatores como genética, idade, dieta, sexo e algumas mudanças de condições ambientais como manejo dos animais, clima e procedimento de coleta sanguínea [4,25]. Em decorrência a essas variações é de grande importância que cada grupo de pesquisa busque estabelecer os seus próprios valores de referência de acordo com a linhagem, sexo e idade, para que assim possam ser avaliadas condições homeostáticas e patológicas para esses animais, bem como escolha dos mesmos [6,11,24] e análise de resultados obtidos em procedimentos experimentais [19].

Analisando-se os índices hematimétricos de fêmeas (Tabela 1), valores referentes a hemoglobina e CHCM apresentam divergência estatística ($P < 0,05$). Segundo Wirth-Dzieciolowska *et al.* [27] algumas diferenças encontradas na comparação de linhagens de

camundongos para parâmetros da série vermelha do sangue podem ser resultantes de mutações de genes responsáveis pela hematopoese ou pela ocorrência de background genético. Para machos (Tabela 2) analisando os mesmos parâmetros não houve variação estatística ($P < 0,05$).

Avaliando os parâmetros leucocitários das fêmeas (Tabela 1) houve variação ($P < 0,05$) entre as linhagens (Balb/c NUDE/ C57BL/6 SCID) apenas para a contagem de leucócitos. Entre camundongos machos (Tabela 2) realizando a mesma análise houve variação ($P < 0,05$) na contagem leucocitária, eosinófilos, linfócitos e neutrófilos. Fêmeas e machos podem apresentar diferentes respostas imunológicas em decorrência aos seus hormônios sexuais, e aparentemente, fêmeas possuem melhor desempenho nessas respostas [1].

No que se refere a valores referentes a contagem leucocitária estatisticamente diversos ($P < 0,05$), tanto para fêmeas quanto para machos (Balb/c NUDE/ C57BL/6 SCID) [Tabelas 1 e 2], animais NUDE apresentam valores superiores para esse parâmetro quando comparados aos SCID. Segundo Green *et al.* [12] fatores genéticos e os métodos de manipulação podem causar alterações nesse parâmetro. Considerando a origem das mutações que ocasionam a imunodeficiência desses animais tem-se que animais SCID apresentam uma severa deficiência na produção de linfócitos T e B,

desta maneira apesar de o déficit de linfócitos maduros não ser absoluto, os animais SCID possuem reduzidos índices leucocitários circulantes, devido principalmente à escassez dos mesmos [8], corroborando com os resultados encontrados no presente estudo.

Ainda sobre os parâmetros da série branca sanguínea, observa-se resultados divergentes ($P < 0,05$), referentes à contagem de eosinófilos, linfócitos e neutrófilos encontrados no leucograma de machos (Tabela 2), estes são superiores para animais NUDE em relação aos SCID. Assim, pode-se sugerir que situações de estresse acrescida dos fatores genéticos hormonais podem ter refletido nesse resultado.

O uso de anestésicos tem por finalidade favorecer a contenção humanitária do animal, propiciando analgesia suficiente para que não haja dor [22]. Diversos anestésicos podem ser utilizados previamente a coletas sanguíneas, e sabe-se que os mesmos possuem perfis farmacológicos variados produzindo múltiplos e diferentes efeitos cardiovasculares em animais [23]. O tribromoetanol, anestésico utilizado no presente estudo, possui simplificada administração, rápida indução, bom relaxamento muscular e baixa mortalidade. Já chamado de avertina, é um anestésico comumente utilizado em algumas espécies, dentre elas os camundongos [29].

A comparação dos parâmetros bioquímicos de fêmeas (Balb/c NUDE /C57BL/6 SCID) (Tabela 3) mostra variações significantes ($P < 0,05$) referentes à fosfatase alcalina (FAL) e creatinina. Já para machos houve variação ($P < 0,05$) entre os valores de FAL e das transaminases ALT e AST. A quantificação dessas transaminases e FAL é útil para avaliação da função hepática [18], já a análise da creatinina, que em geral é realizada em conjunto com a ureia, é útil na avaliação de alterações renais [2].

As transaminases são enzimas amplamente distribuídas nos tecidos, a AST predomina no fígado, coração, músculo cardíaco, músculo estriado, rim e pâncreas, estando presente no citoplasma e mitocôndrias de hepatócitos; a ALT está presente no fígado, rim e coração [9]. A FAL também não é uma enzima órgão-específica, sendo encontrada em vários tecidos e se relacionando principalmente a doenças hepáticas [20]. Um quadro de hepatopatia ativa pode aumentar os valores de FAL, mas as maiores elevações nos níveis da enzima ocorrem nos casos de obstrução do trato biliar. O aumento da atividade sérica de FAL pode ocorrer em condições de colestase, intra e extra-hepática, por

indução com drogas ou hormônios, pela hiperatividade osteoblástica e em processos necróticos [9]. Desta maneira hipotiza-se que o uso do anestésico, somado ao estresse gerado a nível muscular pode ter ocasionado as variações bioquímicas encontradas.

A creatinina é um composto de origem muscular, resultante da degradação da creatina devido o processo de contração muscular [16]. No presente estudo apenas fêmeas apresentaram variações para dosagem de creatinina, devido a não ocorrência de variações nos valores de ureia, sugere-se alterações apenas a nível muscular. Por consequência, a susceptibilidade de animais NUDE a estresse muscular gerado pela manipulação previa a coleta sanguínea pode ser maior, acarretando a variação encontrada.

CONCLUSÕES

As variações genéticas existentes entre animais das linhagens Balb/c NUDE e C57BL/6 SCID podem refletir em variações de parâmetros hematológicos e bioquímicos. Os valores de referência hematológicos e bioquímicos descritos no presente estudo são pioneiros e visam auxiliar futuras pesquisas conduzidas com camundongos das linhagens Balb/c NUDE e C57BL/6 SCID de ambos os sexos. Estabelecendo-se sinais indicadores de homeostasia, tanto diagnóstico quanto tratamento e profilaxia podem ser reforçados. Fornecendo assim uma fonte inicial de informação a literatura, que ainda apresenta-se escassa para as citadas linhagens.

MANUFACTURERS

¹Alesco - ALBR Indústria e Comércio Ltda. Monte Mor, SP, Brazil.

²Quimtia Conexões e valor. Chapecó, SC, Brazil.

³Sigma Aldrich. St. Louis, MO, USA.

⁴Horiba Instruments Brasil Ltda. Jundiaí, SP, Brazil.

⁵Laborclin Ltda. Pinhais, PR, Brazil.

⁶Laborglas Ind e Com de Materiais Para Laboratório Ltda. São Paulo, SP, Brazil.

⁷Bioplus Produtos para Laboratório Ltda. Barueri, SP, Brazil.

⁸Vida Biotecnologia Ltda. Belo Horizonte, MG, Brazil.

Acknowledgments. Os autores agradecem ao CNPQ, CAPES e Laboratório HOVET-UFERSA.

Ethical approval. Para realização do presente trabalho seguiu-se as recomendações do Código Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) (1988), com prévia aprovação da Comissão de Ética e Bem-Estar Animal (CEBEA) da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) sob o protocolo 23091.003217/2014-17.

Declaration of interest. The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of paper.

REFERENCES

- 1 Ahmed S.A., Penhale W.J. & Tala N. 1985. Sex Hormones, Immune Responses, and Autoimmune Diseases. *American Journal of Pathology*. 121: 531-550.
- 2 Adebayo J.O., Yakubu M.T., Egwim E.C., Owoyele V.B. & Enaibe B.U. 2003. Effect of ethanolic extract of *Khaya senegalensis* on some biochemical parameters of rat kidney. *Journal of Ethnopharmacology*. 88: 69-72.
- 3 Almeida A.S., Faleiros A.C.G., Teixeira D.N.S., Cota U.A. & Chica J.E.L. 2008. Valores de referência de parâmetros bioquímicos no sangue de duas linhagens de camundongos. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*. 44: 429-432.
- 4 Araújo F.T.M., Teixeira A.C.P., Araújo M.S.S., Silva C.H., Negrão-Corrêa D.A., Martins-Filho O.A., Peruhype-Magalhães V. & Teixeira-Carvalho A. 2015. Establishment of reference values for hematological and biochemical parameters of mice strains produced in the animal facility at Centro de Pesquisas René Rachou/Fiocruz-Minas Gerais. *Revista da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório*. 3(2): 95-102.
- 5 Barbosa B.S., Praxedes É. A., Lima M.A., Pimentel M.M.L., Santos F.A., Brito P.D., Gadelha-Lelis I.C.N., Macedo M.F. & Bezerra M.B. 2017. Perfil hematológico e bioquímico de camundongos da linhagem Balb-c. *Acta Scientiae Veterinariae*. 45: 1477.
- 6 Branco A.C.S.C., Diniz M.F.F.M., Almeida R.N., Santos H.B., Oliveira K.M., Ramalho J.A. & Dantas J.G. 2011. Parâmetros Bioquímicos e Hematológicos de Ratos Wistar e Camundongos Swiss do Biotério Professor Thomas George. *Revista Brasileira de Ciências da Saúde*. 15: 209-214.
- 7 Bosma G.C., Davisson M.T., Ruetseh N.R., Sweet H.O., Shultz L.D. & Bosma M.J. 1989. The mouse mutation severe combined immune deficiency (scid) is on chromosome 16. *Immunogenetics*. 29: 54-57.
- 8 Bosma M.J. & Carroll A.M. 1991. The SCID mouse mutant: Definition, Characterization, and Potential Uses. *Annual Review Immunology*. 9: 323-350.
- 9 Costa J.P., Lourenço N.V., Santos C.C.M.P., Tomé A.R., Sousa G.F., Sousa D.P., Almeida R.N. & de Freitas R.M. 2012. Avaliação da toxicidade aguda e das alterações histopatológicas em camundongos tratados com fitol. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*. 33: 421-428.
- 10 Cova L., García D.E., Briceño S., Scorza J.V., Montilla E., Medina M.G., Moratinos P., Perea F. & González D. 2011. Parâmetros hematológicos y bioquímicos en el hámster dorado (*Mesocricetus auratus* L.) alimentado con base en harina de lombriz roja (*Eisenia* spp.) y fuentes convencionales. *Avances en Investigación Agropecuaria*. 15: 9-29.
- 11 Dantas J.A., Ambiel C.R., Cuman R.K.N., Baroni S. & Bersani-Amado C.A. 2006. Valores de referência de alguns parâmetros fisiológicos de ratos do biotério central da Universidade Estadual de Maringá, Estado do Paraná. *Acta Scientiarum. Health Sciences*. 28: 165-170.
- 12 Green E.L., Coleman D, L., Kaliss N., Dagg C.P., Russel E.S., Fuller J.L., Staats J. & Green M. C. 1966. *Biology of the Laboratory Mouse*. 2nd edn. New York: Dover, pp.1-50.
- 13 Hoff J. 2000. Methods of Blood Collection in the Mouse. *Laboratory Animals*. 29: 47-53.
- 14 Ishikawa F., Yasukawa M., Lyons B., Yoshida S., Miyamoto T., Yoshimoto G., Watanabe T., Akashi K., Shultz L.D. & Harada M. 2005. Development of functional human blood and immune systems in NOD/SCID/IL2 receptor γ chain^{null} mice. *The American Society of Hematology*. 106: 1565-1573.
- 15 Kelland L.R. 2004. "Of mice and men": Values and liabilities of the athymic nude mice model in anticancer drug development. *European Journal of Cancer*. 40: 827-836.
- 16 Leal T.L., Valadares R.F.F., Valadares Filho S.C., Campos J.M.S., Detmann E., Barbosa A.M., Teixeira R.M.A. & Marcondes M.I. 2007. Variações diárias nas excreções de creatinina e derivados de purinas em novilhas. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 36: 905-911.
- 17 Liston A., Enders A. & Owen M. 2008. Siggs Unravelling the association of partial T-cell immunodeficiency and immune dysregulation. *Nature reviews*. 8: 545-557.
- 18 Martin D.W., Mayes P.A. & Rodwell Y.W. 1981. *HARPER'S Review of Biochemistry*. 18th edn. Los altos: Lange Medical, 688 p.
- 19 Melo M.G.D., Dória A.A., Serafini M.R. & Araújo A.A.S. 2012. Valores de referência Hematológicos e Bioquímicos de Ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) provenientes do biotério central da Universidade Federal de Sergipe. *Scientia Plena*. 8: 049903.
- 20 Mincis M. & Mincis R. 2006. Enzimas hepáticas: aspectos de interesse prático. *Revista Brasileira de Medicina*. 56-60.

- 21 Petit N.Y., Lambert-Niclot S., Marcelin A-G., Garcia S. & Marodon G. 2015. HIV Replication is not controlled by CD8+ T cells during the acute phase of the infection in humanized mice. *Plos One*. 0138420. 10: e0138420.
- 22 Rivera E.A.B. 2002. Anestesia em animais de experimentação. In: Andrade A., Pinto S.C. & Oliveira R.S. (Orgs). *Animais de Laboratório: criação e experimentação* [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, pp.255-262.
- 23 Roth D.M., Swaney J.M., Dalton N.D., Gilpin E.A. & Ross Jr. J. 2002. Impact of anesthesia on cardiac function during echocardiography in mice. *American Journal of Physiology*. 282: 2134-2140.
- 24 Santos E.W., Oliveira D.C.D., Hastreiter A., Silva G.B.D., Beltran J.S.D.O., Tsujita M., Crisma A.M., Neves S.M.P., Fock R.A. & Borelli P. 2016. Hematological and biochemical reference values for C57BL/6, Swiss Webster and BALB/c mice. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. 53(2): 138-145.
- 25 Spinelli M.O., Motta M.C., Cruz R.J. & Godoy C.M.S.C. 2014. Reference intervals for hematological parameters of animals bred and kept at the vivarium of the Faculty of Medicine of the State University of São Paulo. *Acta Scientiarum. Health Sciences*. 36: 1-4.
- 26 Skaznik-Wikiel M.E., Sharma R.K., Selesniemi K., Lee H-J., Tilly J.L. & Falcone T. 2011. Granulocyte colony-stimulating factor in conjunction with vascular endothelial growth factor maintains primordial follicle numbers in transplanted mouse ovaries. *Fertility and Sterility*. 95: 1405-1409.
- 27 Wirth-Dzięciołowska E., Karaszewska J., Pyśniak K., Smolińska M. & Gajewsk M. 2009. Selected peripheral blood cell parameters in twelve inbred strains of laboratory mice. *Animal Science Papers and Reports*. 27: 69-77.
- 28 Zeira E., Abramovitch R., Meir K., Ram S.E., Gil Y., Bulvik B., Bromberg Z., Levkovitch O., Nahmansson N., Adar R., Reubinoff B., Galun E. & Gropp M. 2015. The knockdown of H19lncRNA reveals its regulatory role in pluripotency and tumorigenesis of human embryonic carcinoma cells. *Oncotarget*. 6: 34691.
- 29 Zeller W., Meier G., Burki K. & Panoussis B. 1997. Adverse effects of tribromoethanol as used the production of transgenic mice. *Laboratory Animals*. 32: 407-413.
- 30 Zhang L., Liu Y., Wang X., Tang Z., Li S., Hu Y., Zong X., Wu X., Bu Z., Wu A., Li Z., Li Z., Huang X., Jia L., Kang Q., Liu Y., Sutton D., Wang L., Luo L. & Ji J. 2015. The extent of inflammatory infiltration in primary cancer tissues is associated with lymphomagenesis in immunodeficient mice. *Scientific reports*. 5: 1-6.