

RAE - CEA - 98P14

**RELATÓRIO DE ANÁLISE ESTATÍSTICA
SOBRE O PROJETO: “RELAÇÃO
METABOLISMO-MASSA CORPÓREA NO
CURSO DO DESENVOLVIMENTO DA RÃ
PARADOXAL *Pseudis paradoxus* (AMPHIBIA,
PSEUDIDAE).”**

**Rinaldo Artes
Luciene Pompei Sacardo**

- São Paulo, novembro de 1998 -

CENTRO DE ESTATÍSTICA APLICADA - CEA**RELATÓRIO DE ANÁLISE ESTATÍSTICA – CÓDIGO 98P14**

TÍTULO: Relatório de análise estatística sobre o projeto: “Relação metabolismo-massa corpórea no curso do desenvolvimento da rã paradoxal *Pseudis paradoxus* (Amphibia, Pseudidae).”

PESQUISADORES: Cláudia Midori Kuribara

Silvia Cristina Ribeiro de Souza

INSTITUIÇÃO: Instituto de Biociências, USP.

RESPONSÁVEIS PELA ANÁLISE: Rinaldo Artes, Luciene Pompei Sacardo.

REFERÊNCIA DESTE TRABALHO: Artes, R., Sacardo, L. P., **Relatório de análise estatística sobre o projeto: “Relação metabolismo-massa corpórea no curso do desenvolvimento da rã paradoxal *Pseudis paradoxus* (Amphibia, Pseudidae).”** São Paulo, IME – USP, 1998. (RAE – CEA – 98P14).

FICHA TÉCNICA

BIBLIOGRAFIA:

NETER, J.; WASSERMAN, W. e KUTNER, M. H. (1990). **Applied linear statistical models: regression, analysis of variance and experimental designs.** 3ed. Homewood, Ill: Richard D. Irwin. 1181p.

WASSERSUG, R.J. e FEDER, M. E. (1983). **The effects of aquatic oxygen concentration, body size and respiratory behaviour on the stamina of obligate aquatic (*Bufo americanus*) and facultative air-breathing (*Xenopus laevis* and *Rana berlandier*) anuran larvae.** J. Exp. Biol., 105, 173-190.

PROGRAMAS COMPUTACIONAIS UTILIZADOS:

EXCEL for Windows (versão 7.0);

MINITAB for WINDOWS (versão 10.1);

WORD for Windows (versão 7.0).

TÉCNICAS ESTATÍSTICAS UTILIZADAS:

Análise de Variância Univariada (08:010).

ÁREA DE APLICAÇÃO:

Bioestatística (14:030).

ÍNDICE

RESUMO.....	5
1. INTRODUÇÃO.....	6
2. DESCRIÇÃO DO EXPERIMENTO.....	7
3. DESCRIÇÃO DAS VARIÁVEIS.....	8
4. ANÁLISE DESCRIPTIVA.....	9
5. ANÁLISE INFERENCIAL.....	13
6. CONCLUSÕES.....	30
APÊNDICE A.....	33
APÊNDICE B.....	39
APÊNDICE C.....	48
APÊNDICE D.....	55

RESUMO

Por possuir um padrão de desenvolvimento bastante peculiar, a rã paradoxal *Pseudis paradoxus* representa um modelo para a compreensão do significado funcional e adaptativo da relação **metabolismo-massa corpórea** no curso do desenvolvimento ontogenético, isto é, ao longo do tempo, já que os animais recém eclosidos têm comprimento e massa maiores que os adultos.

O presente estudo tem como principal objetivo verificar se os componentes aeróbico e anaeróbico do metabolismo energético se alteram ao longo desse desenvolvimento. A análise foi realizada com base nas possíveis alterações da atividade de enzimas cuja concentração usualmente varia de acordo com a capacidade aeróbica e anaeróbica de diferentes organismos e tecidos.

Sabe-se, da literatura, que as quantidades de proteínas variam de acordo com a massa do animal. Deseja-se descrever o quanto a ontogênese interfere nessa quantidade, tendo-se eliminado o efeito que a massa corpórea tem sobre essas taxas de proteínas.

As principais conclusões da análise são:

1. A ontogenia não apresenta uma explicação complementar e significativa à massa corpórea para as alterações nas atividades das razões HOAD/proteína do coração e CS/proteína do fígado.
2. A ontogênese adiciona informação significativa na explicação do comportamento das seguintes razões: PK/proteína do coração; PK/proteína, LDH/proteína, e HOAD/proteína do fígado; PK/proteína e LDH/proteína do tecido muscular e ainda as enzimas CS/proteína, LDH/proteína e HOAD/proteína do intestino.
3. O comportamento das razões enzimas/proteínas não é influenciado significativamente pela ontogenia ou pela massa corpórea no tecido do coração para as razões LDH/proteína e CS/proteína, no tecido muscular para as razões CS/proteína e HOAD/proteína e ainda a razão PK/proteína do tecido intestinal.

1. INTRODUÇÃO

A grande maioria dos ranídeos inicia sua vida na água e mantém total ou parcial dependência do meio aquático ao longo de toda a sua existência. Ao longo do desenvolvimento, ocorre um aumento progressivo da massa corpórea e da demanda metabólica total tornando necessárias estruturas respiratórias e mecanismos de regulação de gases mais eficazes. Além disso, processam-se alterações estruturais e funcionais para atenderem à mudança do meio respiratório.

Membro da família Pseudidae, a rã paradoxal *Pseudis paradoxus* representa um modelo promissor para a compreensão do significado funcional e adaptativo da relação **metabolismo-massa corpórea** no curso do desenvolvimento ontogenético (isto é, ao longo do tempo) já que possui um padrão de desenvolvimento bastante peculiar. Os girinos, em algumas fases de desenvolvimento, têm comprimento e massa maiores que os adultos. Em condições artificiais de laboratório, as larvas no primeiro estágio de desenvolvimento possuem um comprimento total de 4,5cm. À medida que os estágios vão se sucedendo (são 21 estágios ao todo), o comprimento total vai aumentando, até que em um estágio intermediário ela atinge cerca de 14,5cm. Após este estágio, o tamanho vai se reduzindo até que no último estágio a larva chega a medir 3,5cm.

Percebe-se assim, que este animal possui um padrão peculiar de desenvolvimento com uma intensificação do fenômeno de crescimento na fase larval, e uma segunda etapa na qual o crescimento dos jovens até a forma adulta é pouco acentuado, de modo que os adultos não atingem uma massa corpórea sequer equivalente a dos girinos de maior massa.

Diante das peculiaridades da rã paradoxal *Pseudis paradoxus* o presente estudo tem como principal objetivo verificar se os componentes aeróbico e anaeróbico do metabolismo energético se alteram ao longo do desenvolvimento e com a expansão e redução da massa corpórea, analisada com base nas possíveis alterações da atividade de enzimas cuja concentração usualmente varia de acordo com a capacidade aeróbica e anaeróbia de diferentes organismos e tecidos.

2. DESCRIÇÃO DO EXPERIMENTO

Os ranídeos foram coletados em tanques de cultivo intensivo de peixes ornamentais localizados na cidade de Ribeirão Preto, interior de São Paulo, onde os girinos de *Pseudis paradoxus* são encontrados em grande número. A ração utilizada para otimizar o crescimento dos peixes possivelmente resulta na eutrofização da água e proliferação de algas, componente principal da dieta das larvas desta espécie em condições naturais, proporcionando condições ótimas para o seu desenvolvimento e crescimento.

Como a reprodução, nesta espécie, é um evento marcadamente sazonal, as coletas foram realizadas nos meses de dezembro a março, que coincide com o pico da estação reprodutiva.

Os girinos foram capturados manualmente no momento em que os tanques foram esvaziados para triagem e remanejo dos peixes. No laboratório, foi realizada uma seleção prévia para a divisão dos animais em grupos segundo o estágio de desenvolvimento dos animais. Em seguida os animais foram transferidos para aquários ou terraquários de acordo com o estágio de desenvolvimento ao qual pertenciam. Com a finalidade de obter um número razoável de animais por grupo, os 21 estágios de desenvolvimento foram agrupados seqüencialmente conforme alterações morfológicas e comportamentais relevantes, de tal maneira que formaram-se 7 diferentes grupos. Considerando que os animais pertencentes ao último estágio de desenvolvimento possuem forma, tipo de locomoção e alimentação típicos da rã adulta, estes formaram um único grupo (grupo 7). O grupo 1 foi formado por animais pertencentes aos 5 primeiros estágios de desenvolvimento já que no início do desenvolvimento (ou seja, a partir do primeiro até o quinto estágio de desenvolvimento) os animais apresentam comportamentos fisiológicos muito semelhantes. Já os demais grupos, foram compostos por animais de três diferentes estágios de desenvolvimento cada.

A partir daí, os anfíbios foram mantidos em tanques com alimentação composta de ração comercial ou insetos e larvas de tenébrios vivos até o momento do sacrifício.

Para alcançar os objetivos desse trabalho, foram realizadas basicamente, duas etapas experimentais, que incluem primeiramente, medidas de **consumo de oxigênio** de animais em diferentes estágios de desenvolvimento, além da medida de parâmetros como **comprimento total, massa corpórea e massa muscular** da cauda dos estágios larvais.

Numa segunda etapa, a **atividade máxima de enzimas** marcadoras do metabolismo oxidativo mitocondrial foi determinada em vários tecidos e expressa em função da **massa seca e concentração de proteína total** dos tecidos.

Para a consecução das **amostras de tecidos** e determinação da **massa muscular**, os animais foram pesados, medidos e devolvidos ao aquário para reduzir o estresse da manipulação. Após aproximadamente uma hora os animais foram sacrificados por decapitação e **tecidos** como o **músculo da cauda, fígado, coração e cérebro** foram retidos para análises.

Foi também realizada a separação do conteúdo de proteína dos tecidos para a obtenção da **medida da concentração de proteína total e de DNA dos tecidos**. Além disso, ensaios enzimáticos foram efetuados com a finalidade de medir a **atividade enzimática máxima**. As enzimas estudadas foram: Citrato sintase, β -HidroxiacilCoA-desidrogenase, Piruvato quinase e Lactato desidrogenase.

3. DESCRIÇÃO DAS VARIÁVEIS

Observou-se as seguintes variáveis:

- Massa corpórea (g)
- Comprimento boca-ânus (cm);
- Comprimento da cauda (cm);
- Comprimento da pata (cm);
- Comprimento total (cm),
- Proteína total (mg);
- Atividade enzimática máxima (unidades.mg/massa seca, em que uma unidade = μ mol do produto formado por minuto) das seguintes enzimas: Citrato

sintase - CS, β -HidroxiacilCoA-desidrogenase - HOAD, Piruvato kinase - PK e Lactato desidrogenase – LDH. A atividade máxima de cada uma das dessas enzimas foi medida em 4 diferentes tecidos do animal: **fígado, coração, trato gastrointestinal e músculo**. Dessa forma, para cada anfíbio foram obtidos 16 valores de atividades enzimáticas (4 enzimas: CS, HOAD, PK e LDH x 4 tecidos: fígado, coração, intestino e músculo).

4. ANÁLISE DESCRIPTIVA

Com a finalidade de estudar o comportamento do tamanho do animal ao longo da ontogenia, foram consideradas as variáveis massa corpórea, comprimento da cauda, comprimento da pata, comprimento boca-ânus e comprimento total e a partir delas, foram construídos gráficos e uma tabela para auxiliarem o estudo. Na Tabela 4.1 pode-se observar os comportamentos das variáveis ao longo da ontogenia.

Analizando os gráficos de médias (Gráficos 4.1 a 4.5), com exceção do Gráfico 4.3., notamos que os animais apresentam um padrão de crescimento positivo que se inicia na eclosão, ou seja, a partir do grupo 1 e se estende até atingirem o estágio de desenvolvimento dos animais pertencentes ao grupo 5. Este padrão de crescimento é semelhante em todas as variáveis (massa corpórea, comprimento da cauda, comprimento boca-ânus e comprimento total). A partir do estágio 6, notamos uma tendência de decrescimento no tamanho do animal, ou seja a partir do estágio 6 os valores médios das variáveis de tamanho começam a decrescer apresentando valores médios ainda menores no estágio 7. É possível observar também, que a variabilidade dos dados cresce juntamente com seus valores médios.

Analizando o para a variável comprimento da pata (Gráfico 4.3), percebemos que as patas aparecem apenas nos animais pertencentes aos grupos 5, 6 e 7, já que as larvas não apresentam tal característica.

Tabela 4.1 Tabela de médias, desvios padrão e tamanho da amostra das variáveis de tamanho por grupo de desenvolvimento.

Variáveis de Tamanho	Grupos																				
	1		2		3		4		5		6		7								
	N	Média	D.P.	N	Média	D.P.	N	Média	D.P.	N	Média	D.P.	N	Média	D.P.	N	Média	D.P.			
Massa Corpórea (g)	6	1,10	1,15	14	5,74	2,64	10	9,25	2,17	9	27,24	14,93	8	36,45	15,05	7	17,97	8,91	7	4,40	2,20
Comprimento Cauda (cm)	6	2,87	1,05	14	7,13	1,14	10	7,14	1,47	9	10,49	2,29	8	12,56	2,30	7	9,15	4,07	0	0	0
Comprimento Boca – Anus (cm)	6	1,95	0,93	10	3,11	0,74	7	4,05	0,88	1	4,00	0,00	4	6,26	0,61	7	5,23	1,93	7	3,47	0,40
Comprimento Pata (cm)	0			0			0			0			3	5,18	2,07	7	6,63	1,63	7	5,86	0,72
Comprimento Total (cm)	6	4,11	1,43	14	9,43	1,51	10	9,57	1,49	9	13,74	2,68	8	16,09	3,19	7	12,76	4,28	7	3,47	0,40

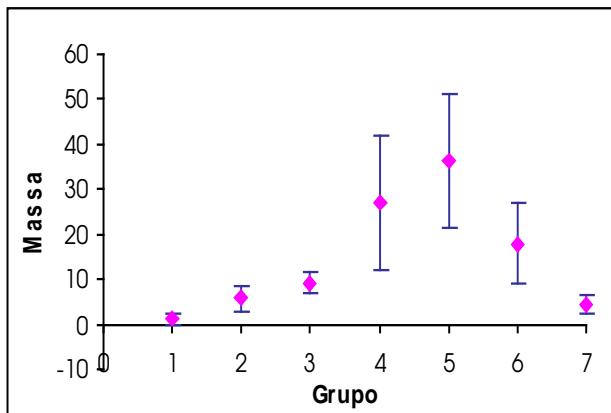


Gráfico 4.1. Médias e desvios padrão da massa (g) por grupo de desenvolvimento.

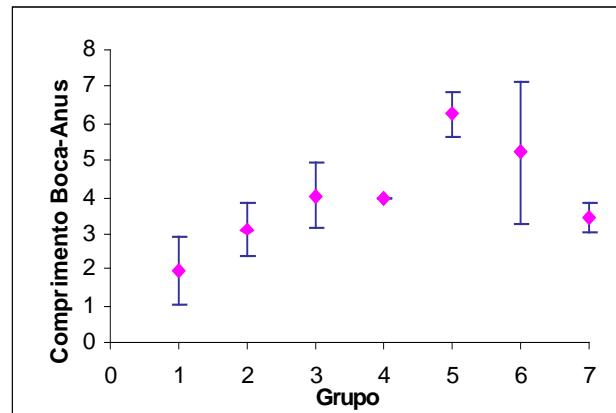


Gráfico 4.4. Médias e desvios padrão do comprimento boca-anus (cm) por grupo de desenvolvimento.

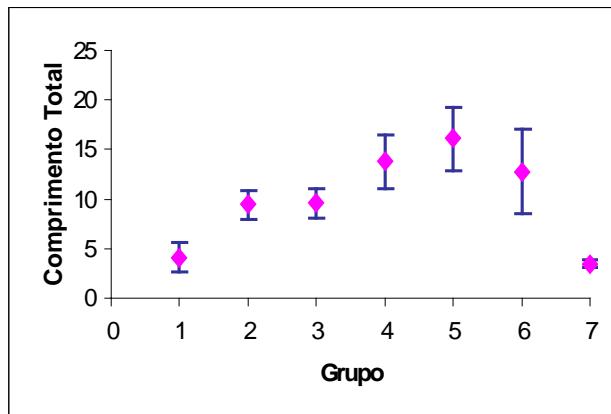


Gráfico 4.2. Médias e desvios padrão do comprimento total (cm) por grupo de desenvolvimento.

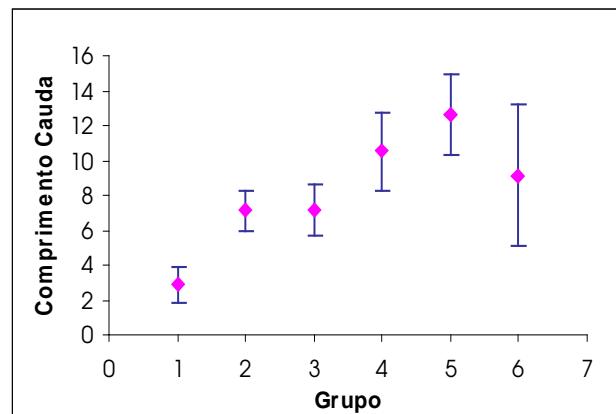


Gráfico 4.5. Médias e desvios padrão do comprimento da cauda (cm) por grupo de desenvolvimento.

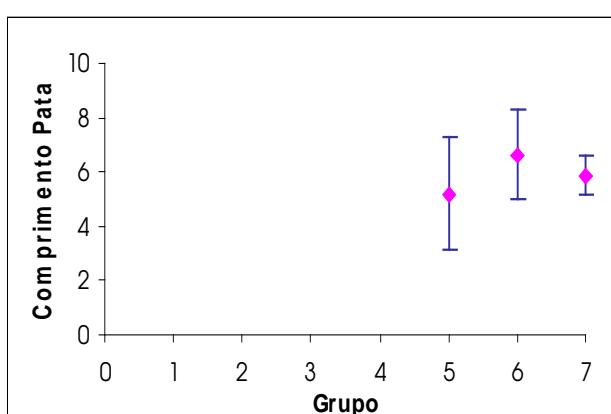


Gráfico 4.3. Médias e desvios padrão do comprimento da pata (cm) por grupo de desenvolvimento.

Com a finalidade de observar o comportamento da razão das atividades máximas das diversas enzimas (PK, LDH, CS e HOAD) por proteína ao longo do desenvolvimento, foram construídos os Gráficos A.1 a A.16 localizados no Apêndice A, para cada um dos 4 tecidos analisados (intestino, coração, fígado e músculo). Desta forma, podemos notar que não há um padrão de comportamento da razão (enzima/proteína) que se estenda para todos os tecidos analisados.

Na Tabela A.1 (Apêndice A) apresentamos as médias e desvios padrão associados aos Gráficos A.1 a A.16.

Considerando, nos gráficos do apêndice A, apenas o tecido gastro intestinal, por exemplo, observamos que as razões LDH/proteína, CS/proteína e HOAD/proteína (Gráficos A.5, A.9 e A.13, respectivamente) apresentam um padrão de crescimento até o grupo 4 de desenvolvimento e um padrão de decrescimento após esse grupo. Já o Gráfico A.1 (razão PK/proteína) não apresenta um padrão claro de crescimento ou decrescimento.

Para o tecido do coração, notamos, para todas as razões enzimas/proteína, (Gráficos A.2, A.10 e A.14, respectivamente) a ocorrência de um pico ao redor do grupo de desenvolvimento 3 e um decrescimento até o grupo 7.

No tecido do fígado, para cada razão enzima/proteína percebemos que não existe um padrão claro de crescimento ou decrescimento. Assim, para cada variável enzima/proteína há um comportamento diferente, embora nota-se, que as variáveis PK/proteína, LDH/proteína e HOAD/proteína (Gráficos A.3, A.7 e A.15, respectivamente) possuam valores bem abaixo dos restantes para o grupo de desenvolvimento 7.

O tecido muscular evidencia uma tendência de crescimento ao longo dos grupos de desenvolvimento para as razões PK/proteína, LDH/proteína e CS/proteína (Gráficos A.4, A.8 e A.12, respectivamente) e uma tendência decrescente para HOAD/proteína (Gráfico A.16).

Com a finalidade de observarmos o comportamento da razão das atividades máximas das enzimas por proteína em relação a massa corpórea do animal, foram construídos alguns diagramas de dispersão localizados no Apêndice B (Gráficos B.1 a

B.16). Tais gráficos ilustram o comportamento da razão das atividades máximas das enzimas (PK, CS, LDH e HOAD) medidas nos tecidos intestinal, coração, fígado e muscular por proteína do tecido em relação a massa corpórea do animal, considerando o grupo ao qual esses animais pertencem.

Analisando esses gráficos, notamos que a relação entre massa corpórea e as enzimas difere de grupo para grupo. No Gráfico B.1, por exemplo, percebemos uma aparente tendência de crescimento da razão PK/proteína em função da massa corpórea no grupo de desenvolvimento 3. Por outro lado, parece não existir relação entre a razão PK/proteína e massa corpórea no grupo 6, por exemplo.

De maneira geral, podemos considerar que em nenhum dos gráficos há evidências de que a relação entre massa corpórea e a razão enzima/proteína seja a mesma para todos os grupos.

5. ANÁLISE INFERENCIAL

A fim de minimizar a violação das suposições dos modelos estatísticos empregados na análise, aplicou-se a transformação logaritmo natural nos dados originais das razões enzimas/proteínas (ou seja, nas variáveis resposta), de forma que todos os modelos estatísticos foram ajustados às variáveis transformadas e não às variáveis originais.

Sabe-se, de estudos anteriores, que as quantidades de enzimas variam de acordo com a massa do animal (Wassersug e Feder, 1983), assim o presente estudo deseja descrever o quanto a ontogênese interfere nessa quantidade, tendo controlado o efeito que a massa corpórea tem sobre essas taxas de proteínas. Portanto, com a finalidade de verificar a explicação dada somente pela variável massa corpórea, foi ajustado, um modelo de regressão linear (Neter et al. ,1990) tendo como variável resposta (ou dependente) as diversas razões **enzimas/proteína** e **massa corpórea** como variável preditora (ou independente) (ver Apêndice C, *modelo 1*).

Para verificar se os estágios de desenvolvimento (ontogênese) acrescentam informação significativa na explicação das alterações da atividade das enzimas além da

contribuição devida à massa corpórea, o *modelo 1* foi comparado com um segundo modelo de regressão linear (ver *modelo 2* no Apêndice C) que tem como variável resposta cada uma das diversas razões **enzimas/proteína** e as variáveis **grupos de desenvolvimento, massa corpórea e massa corpórea por grupos de desenvolvimento**, como variáveis independentes. A comparação dos modelos foi feita através de um teste **F parcial** (Neter et al., 1990) o qual se baseia no estudo da redução da parte residual do modelo (ou seja, da parte não explicada pelo modelo) ao se passar do *modelo 1* para o *modelo 2*. Se o nível descritivo do teste for inferior a 5%, diremos que há evidências que a ontogênese apresenta uma explicação complementar significativa à massa corpórea para as alterações nas atividades das razões enzimas/proteínas.

Quando houve evidência de que a ontogênese trazia explicação adicional significativa à massa corpórea, ajustamos novos modelos de regressão. O *modelo 3* (Apêndice C) pressupõe que a taxa de crescimento da quantidade de proteína em função da massa é a mesma para todos os grupos e que as diferenças entre os grupos estão apenas na magnitude dos valores das quantidades de enzimas. Essa hipótese será testada através de um teste F parcial comparando os modelos 2 e 3. Se o nível descritivo do teste for inferior a 5%, concluiremos que as taxas de crescimento diferem entre os grupos.

O *modelo 4*, por sua vez, admite apenas que as taxas de crescimento das enzimas em função da massa variam entre os grupos. Ao comparar os *modelos 2 e 4* através de um teste F parcial, concluiremos haver diferença de magnitude das quantidades das enzimas entre os grupos se o nível descritivo do teste for inferior a 5%.

Os resultados dos testes **F parciais** variam de acordo com o tecido analisado e podem ser observados nas Tabelas 5.1.1, 5.2.1, 5.3.1 e 5.4.1.

Sabe-se que a massa corpórea se altera com os grupos de desenvolvimento. Essa relação existente entre as variáveis massa corpórea e grupos de desenvolvimento implica em um problema de ordem técnica denominado multicolinearidade (Neter et al., 1990), cuja ocorrência prejudica o ajuste de alguns modelos. Em algumas situações, ao comparar os *modelos 2 e 3* e *2 e 4*, chegamos à conclusão de que as taxas de crescimento das proteínas (comparação entre os *modelos 2 e 3*) em função da massa

era a mesma para todos os grupos e que as magnitudes entre os grupos também não diferiam (comparação entre os *modelos 2 e 4*). Essas conclusões são, a primeira vista, contraditórias, uma vez que seríamos levados a ajustar o *modelo 1*, que fora previamente descartado na comparação entre os *modelos 1 e 2*. Essa contradição ocorre devida à multicolinearidade. Há várias maneira de lidar com esse problema (ver Neter et al., 1990), dentre elas, optamos por redefinir os modelos, buscando diminuir o número de variáveis envolvidas, a partir do comportamento observado nos gráficos do Apêndice B, ou seja, tentamos identificar quais grupos tinham a mesma taxa de crescimento das proteínas em função da massa e quais tinham a mesma magnitude. Para verificar a adequabilidade do *novo modelo proposto*, foram apresentadas as somas de quadrado residual referente ao *modelo 2*, ao *modelo proposto* e determinada a estatística do teste F parcial correspondente. Note que em muitos casos não é possível a determinação do nível descritivo do teste, uma vez que esse pressupõe que as variáveis do menor modelo estejam todas no modelo maior, o que pode não acontecer.

A seguir apresentamos os resultados da análise por tipo de tecido.

5.1. CORAÇÃO

Analizando a Tabela 5.1.1 temos indicações que a ontogênese não acrescenta informação na explicação das alterações nas atividades das enzimas CS, LDH e HOAD, em relação à massa, e portanto, deve ser ajustado o *modelo 1* para o logaritmo natural das razões CS/proteína, LDH/proteína e HOAD/proteína de acordo com a Tabela 5.1.2.

Tabela 5.1.1 Níveis descritivos do teste F parcial entre *modelo 1* e o *modelo 2* (testar se a ontogênese contribui com informação adicional significativa) para as razões enzimas/proteínas observadas no coração.

Ln (enzima/proteína)	Nível Descritivo
CS	0,426
LDH	0,268
PK	0,006
HOAD	0,350

Tabela 5.1.2 Estimativas dos parâmetros do *modelo 1* (massa corpórea explica todas as alterações nas atividades enzimáticas).

Ln (enzima/proteína)	Coeficientes	Estimativas	Erro Padrão	Nível Descritivo
CS	μ	-1,711	0,110	< 0,001
	α	0,007	0,005	0,152
LDH	μ	0,685	0,091	< 0,001
	α	0,006	0,004	0,162
HOAD	μ	-2,332	0,128	< 0,001
	α	0,012	0,006	0,048

A partir da Tabela 5.1.2, podemos concluir que a massa não traz explicação significativa para as alterações nas atividades das enzimas CS e LDH. Portanto, podemos dizer que as médias dos logaritmos naturais das razões CS/proteína e LDH/proteína não variam conforme a ontogenia do animal, permanecendo constantes e iguais a 0,780 (na escala original, 2,182 $\mu\text{mol}/\text{min} \cdot \text{mg proteína}$) e -1,593 (na escala original, 0,203 $\mu\text{mol}/\text{min} \cdot \text{mg proteína}$), respectivamente (ver Tabela 5.1.3), durante todo o desenvolvimento.

Tabela 5.1.3 Estimativas dos parâmetros do modelo com uma única variável preditora e constante para o coração.

Ln (enzima/proteína)	Coeficientes	Estimativas	Erro Padrão	Nível Descriutivo
CS	μ	0,780	0,062	< 0,001
LDH	μ	-1,593	0,075	< 0,001

Em contrapartida, vemos que a variável massa corpórea traz uma explicação significativa para as alterações nas atividades da enzima HOAD (Tabela 5.1.2), portanto, o *modelo 1* deve ser ajustado. A partir do ajuste do modelo podemos inferir que o valor esperado do logaritmo natural da razão enzima/proteína sofre, em média, um acréscimo de 0,012 unidades quando a massa do animal aumenta de 1 grama.

Resta-nos ainda ajustar um modelo para a enzima PK. Da Tabela 5.1.1, temos que para o logaritmo natural da razão PK/proteína, os estágios de desenvolvimento estão contribuindo para uma explicação adicional significativa à variável massa corpórea, portanto foram ajustados os *modelos 3 e 4* (na Tabela 5.1.4 temos os níveis descritivos dos testes F parciais que comparam esses modelos com o *modelo 2*).

Tabela 5.1.4 Níveis descritivos dos testes F parciais para o modelo de efeito na taxa de crescimento (*modelo 3*) e o modelo de efeito no nível da quantidade de enzimas (*modelo 4*) para o coração.

Ln (enzima/proteína)	Efeito na taxa de crescimento	Efeito no nível da quantidade de enzimas
PK	0,313	0,337

Se considerarmos a Tabela 5.1.4, notamos que há indicações para ajustarmos, para a enzima PK, tanto o *modelo 3* quanto o *modelo 4*, logo adotaremos a estratégia descrita para esses casos na seção anterior.

Observando o Gráfico B.5, vemos que os animais dos grupos 4 e 5 devem possuir taxas de crescimento semelhantes para a razão PK/proteína em função da massa, e portanto, podemos estimar um único valor para representá-las. O mesmo ocorre para os animais pertencentes aos grupos 3, 6 e 7. Podemos notar também que os grupos 2, 5 e 7 parecem possuir interceptos semelhantes, logo tentou-se ajustar um valor único que representasse esse nível de PK/proteína para os três grupos conjuntamente. Esse modelo foi denominado *modelo final* proposto para a enzima PK no tecido do coração e encontra-se descrito no Apêndice C.

Com a finalidade de verificar a adequabilidade da utilização do *modelo final* apresentamos na Tabela 5.1.5 a soma dos quadrados dos resíduos para o *modelo 2* (modelo completo) e o *modelo final* (modelo reduzido) e o teste F parcial correspondente, que traz indicações que a explicação dada pelo modelo 2 é semelhante àquela dada pelo modelo final o qual possui um menor número de parâmetros e portanto deve ser ajustado aos dados da enzima PK.

Tabela 5.1.5 Soma dos Quadrados dos Resíduos para o *modelo 2* e para o *modelo final* e teste F parcial, para a razão PK/proteína no tecido do coração.

Soma dos Quadrados dos Resíduos			
Ln (enzima/proteína)	Modelo 2	Modelo final	F parcial
PK	4,347	4,430	0,119

Tabela 5.1.6 Estimativas do *modelo final proposto* para a enzima PK.

Ln (enzima/proteína)	Coeficientes	Estimativas	Erro Padrão	Nível Descriutivo
PK	μ	-0,608	0,120	< 0,001
	α	-0,016	0,015	0,282
	β_3	1,097	0,197	< 0,001
	β_4	0,368	0,163	0,030
	β_6	0,837	0,277	0,005
	α_2	0,114	0,027	< 0,001
	α_{45}	0,034	0,015	0,024

Da Tabela 5.1.6, podemos concluir que quando a massa do animal dos grupos 3, 6 ou 7 aumenta de 1 grama, o valor esperado do logaritmo natural da razão PK/proteína sofre um decréscimo de 0,016. Tomando como referência o intercepto observado para os grupos 2, 5 ou 7 (-0,608), observamos um incremento de 1,097, 0,398 e 0,837 ao compará-lo com os interceptos associados aos grupos 3, 4 ou 6, respectivamente. No caso da massa corpórea do animal ser aumentada de 1 grama no grupo 2 ou no grupo 45 (grupo formado por animais dos grupos 4 e 5), ocorrerão acréscimos de 0,114 e 0,034, respectivamente, no valor esperado do logaritmo natural da razão PK/proteína em relação ao observado nos grupos 3, 6 ou 7.

5.2. FÍGADO

Observando a Tabela 5.2.1 notamos que a ontogênese não apresenta uma explicação complementar e significativa à massa corpórea para as alterações na razão CS/proteína, assim temos indicações de ajuste do *modelo 1* (ver estimativas na Tabela 5.2.2) para esta variável.

Tabela 5.2.1 Níveis descritivos do teste F parcial entre *modelo 1* e o *modelo 2* (testar se a ontogênese contribui com informação adicional significativa) para as razões enzimas/proteínas observadas no fígado.

Ln (enzimas)	Nível Descritivo
CS	0,372
LDH	0,032
PK	< 0,001
HOAD	< 0,001

Tabela 5.2.2 Estimativas dos parâmetros do *modelo 1* (massa corpórea explica todas as alterações nas atividades enzimáticas).

Ln (enzima/proteína)	Coeficientes	Estimativas	Erro Padrão	Nível Descritivo
CS	μ	-3,324	0,063	< 0,001
	α	-0,007	0,003	0,032

Ainda na Tabela 5.2.1, nota-se que para as razões LDH/proteína, PK/proteína e HOAD/proteína devem ser tentados os ajustes dos *modelos 3* e *4* a fim de avaliarmos o efeito da ontogenia, em função da massa corpórea, nas taxas de crescimento das proteína e na magnitude dos valores das quantidades de enzimas (Tabela 5.2.3).

Tabela 5.2.3 Níveis descritivos dos testes F parciais para o modelo de efeito na taxa de crescimento (*modelo 3*) e o modelo de efeito no nível da quantidade de enzimas (*modelo 4*), para o fígado.

Ln (enzima/proteína)	Efeito na taxa de crescimento	Efeito no nível da quantidade de enzimas
PK	0,679	0,011
LDH	0,293	0,241
HOAD	0,142	0,001

A Tabela 5.2.3, traz evidências de ajuste do *modelo 3* para as enzimas PK e HOAD. A partir dos resultados obtidos com o ajuste do *modelo 3* (Tabela D.2, Apêndice D), concluímos que quando a massa do animal do grupo 7 aumenta de 1 grama, o valor esperado do logaritmo natural da razão PK/proteína sofre um acréscimo de 0,013. Para HOAD não há evidências de que a quantidade de enzima se altera com a massa para os animais do grupo 7 (quando a massa do animal do grupo 7 aumenta de 1 grama, o valor esperado do logaritmo natural da razão HOAD/proteína sofre um acréscimo de 0,009). Se considerarmos como variável resposta o logaritmo natural da razão PK/proteína, e tomarmos como referência o intercepto observado para o grupo 7 (-3,059), notamos um acréscimo de 0,671, 1,102, 0,712, 0,645, 0,619, 1,006 ao compará-lo com os interceptos associados aos grupos 1, 2, 3, 4, 5 ou 6, respectivamente. Já para o logaritmo natural da razão HOAD/proteína, tomando como referência o intercepto observado para o grupo 7 (-3,362), notamos um incremento de 1,890, 1,068, 1,582, 1,467, 1,603 e 1,623 ao compará-lo com os interceptos associados aos grupos 1, 2, 3, 4, 5 ou 6.

O ajuste do modelo para a enzima LDH foi prejudicado pela multicolinearidade existente entre as variáveis preditoras. Para solucionarmos tal problema, analisamos o Gráfico B.9 do mesmo modo que foi feito para a enzima PK no tecido do coração e, a partir dessa análise gráfica ajustamos um modelo para a enzima LDH com diferentes taxas de crescimento das enzimas em relação à massa para os animais dos grupos 2, 5 e 6 e com diferentes interceptos para os grupos 3 e 4.

Para verificar a adequabilidade do *modelo final proposto* para a enzima LDH, foram apresentadas as somas de quadrado residual e o teste F parcial referentes ao *modelo 2* e ao *modelo final* (Tabela 5.2.4), que nos levam ajustar o *modelo final*.

Tabela 5.2.4 Soma dos Quadrados dos Resíduos para o *modelo 2* e para o *modelo final* e teste F parcial, para a razão LDH/proteína no tecido do fígado.

Ln (enzima/proteína)	Soma dos Quadrados dos Resíduos		
	Modelo 2	Modelo final	F parcial
LDH	2,890	3,825	1,293

As estimativas dos parâmetros do *modelo final* são apresentadas na Tabela 5.2.5 e nos levam a concluir que quando a massa do animal dos grupos 1, 3, 4 ou 7 aumenta de 1 grama, o valor esperado do logaritmo natural da razão PK/proteína sofre um decréscimo de 0,034. Tomando como referência o intercepto observado para os grupos 1, 2, 5, 6 ou 7 (-0,246), notamos o incremento de 0,627 e 0,720, ao compará-lo com os interceptos associados aos grupos 3 ou 4, respectivamente. No caso da massa corpórea do animal ser aumentada de 1 grama no grupo 5 ou no grupo 6, ocorrerão acréscimos de 0,030 e 0,034, respectivamente, no valor esperado do logaritmo natural da razão LDH/proteína em relação ao observado nos grupos 1, 3, 4 ou 7.

Tabela 5.2.5 Estimativas dos parâmetros do *modelo final* para a enzima LDH.

Ln (enzima/proteína)	Coeficientes	Estimativas	Erro Padrão	Nível Descritivo
LDH	μ	-0,246	0,094	0,013
	α	-0,034	0,011	0,003
	β_3	0,627	0,169	0,001
	β_4	0,720	0,261	0,001
	α_2	0,086	0,027	0,003
	α_5	0,030	0,011	0,009
	α_6	0,034	0,014	0,021

5.3. MÚSCULO

A Tabela 5.3.1 mostra os resultados dos testes F parciais entre o *modelo 1* e o *modelo 2*. De acordo com essa tabela, temos indicações que a variável grupos de desenvolvimento não contribui com informação adicional significativa na explicação das alterações nas atividades das enzimas CS e HOAD no tecido muscular. Logo, para as razões CS/proteína e HOAD/proteína, ajustamos o *modelo 1* (ver Tabela 5.3.2).

Tabela 5.3.1 Níveis descritivos do teste F parcial entre *modelo 1* e o *modelo 2* (testar se a ontogênese contribui com informação adicional significativa) para as razões enzimas/proteínas observadas no tecido muscular.

Ln (enzimas)	Nível Descritivo
CS	0,3173
LDH	< 0,001
PK	< 0,001
HOAD	0,672

Tabela 5.3.2 Estimativas dos parâmetros do *modelo 1* (massa corpórea explica todas as alterações nas atividades enzimáticas).

Ln (enzima/proteína)	Coeficientes	Estimativas	Erro Padrão	Nível Descritivo
CS	μ	-2,693	0,082	< 0,001
	α	-0,001	0,004	0,899
HOAD	μ	-3,881	0,094	< 0,001
	α	-0,001	0,005	0,932

A partir da Tabela 5.3.2, podemos perceber que deve ser ajustado, para cada uma das enzimas (CS e HOAD), um modelo de regressão com uma única variável explicativa e constante que deverá ser a média do logaritmo natural da razão CS/proteína e HOAD/proteína para todos os animais. Isso significa que no tecido muscular, as médias do logaritmo natural da quantidade das razões CS/proteína e HOAD/proteína não variam conforme a ontogenia do animal, sendo constantes e iguais a -2,700 (na escala original 0,067 $\mu\text{mol}/\text{min} \cdot \text{mg proteína}$) e -3,886 (na escala original 0,021 $\mu\text{mol}/\text{min} \cdot \text{mg proteína}$), respectivamente, (ver Tabelas 5.3.3) durante todo o desenvolvimento.

Tabela 5.3.3 Estimativas dos parâmetros dos modelos com uma única variável preditora e constante para o tecido muscular.

Ln (enzima/proteína)	Coeficientes	Estimativas	Erro Padrão	Nível Descriutivo
CS	μ	-2,700	0,060	< 0,001
HOAD	μ	-3,886	0,069	< 0,001

A Tabela 5.3.1 mostra ainda, que para as razões LDH/proteína e PK/proteína, a ontogênese deve fornecer uma explicação adicional à variável massa corpórea, portanto, devem ser ajustados os *modelos 3 e 4* a fim de estudarmos o efeito da ontogenia nas taxas de crescimento e nos níveis de quantidades de enzimas em função da massa corpórea (Tabela 5.3.4).

Tabela 5.3.4 Níveis descritivos dos testes F parciais para o modelo de efeito na taxa de crescimento (*modelo 3*) e o modelo de efeito no nível da quantidade de enzimas (*modelo 4*), no tecido muscular.

Ln (enzima/proteína)	Efeito na taxa de crescimento	Efeito no nível da quantidade de enzimas
PK	0,107	0,031
LDH	0,279	0,009

Os resultados nos levam a ajustar o *modelo 3* para as enzimas PK e LDH (Apêndice C). De acordo a Tabela D.3 no Apêndice D, temos que no grupo 7 a quantidade de PK/proteína não se altera significativamente com a massa. O mesmo ocorre com LDH/proteína. Se, para a variável resposta PK/proteína, tomarmos como referência o intercepto observado para o grupo 7 (0,574), notamos um decréscimo de 1,011, 0,812, 0,925, 0,905 ao compará-lo com os interceptos associados aos grupos 1, 2, 3 ou 4, respectivamente. Já para os grupos 5 e 6, não há evidências de que a quantidade de proteínas se altere com a massa. Para LDH não há evidências de que a quantidade de proteínas se altere com a massa para o grupo 6, e para os grupos 1, 2, 3, 4 e 5 espera-se decréscimos de 1,400, 1,010, 1,345, 1,042 e 0,955, respectivamente, na quantidade de LDH com o acréscimo de 1 grama de massa.

5.4. INTESTINO

Tabela 5.4.1 Níveis descritivos do teste F parcial entre *modelo 1* e o *modelo 2* (testar se a ontogênese contribui com informação adicional significativa) para as razões enzimas/proteínas observadas no tecido intestinal.

Ln (enzima/proteína)	Nível Descritivo
CS	0,003
LDH	0,018
PK	0,763
HOAD	0,001

Considerando um nível de significância de 5%, a Tabela 5.4.1 traz indicações que a variável grupo de desenvolvimento não traz informação extra significativa na explicação das alterações das quantidades de enzima PK em relação à massa corpórea. Portanto, para a relação PK/proteína deve ser ajustado o *modelo 1* (ver Tabela 5.4.2).

Tabela 5.4.2 Estimativas dos parâmetros do *modelo 1* (massa corpórea explica todas as alterações nas atividades enzimáticas).

Ln (enzima/proteína)	Coeficientes	Estimativas	Erro Padrão	Nível Descritivo
PK	μ	-1,501	0,041	< 0,001
	α	0,002	0,002	0,220

Da Tabela 5.4.2, podemos concluir que no intestino, a média do logaritmo natural da quantidade da razão CS/proteína não varia conforme a ontogenia do animal ou a massa corpórea, sendo constante e igual a -1,463 (na escala original 0,232 $\mu\text{mol}/\text{min} \cdot \text{mg proteína}$) durante todo o desenvolvimento (ver Tabela 5.4.3).

Tabela 5.4.3 Estimativas dos parâmetros do modelo com uma única variável preditora e constante para o intestino.

Coeficientes	Estimativas	Erro Padrão	Nível Descriptivo
μ	-1,463	0,028	< 0,001

Entretanto, para as enzimas CS, LDH e HOAD, a ontogênese traz explicação adicional à variável massa corpórea (Tabela 5.4.1). Foram ajustados os *modelos 3 e 4* a fim de estudar o efeito dos estágios de desenvolvimento nas taxas de crescimento e no seu nível em função da massa corpórea (Tabela 5.4.4).

Tabela 5.4.4 Níveis descriptivos dos testes F parciais para o modelo de efeito na taxa de crescimento (*modelo 3*) e o modelo de efeito no nível da quantidade de enzimas (*modelo 4*), para o intestino.

Ln (enzima/proteína)	Efeito na taxa de crescimento	Efeito no nível da quantidade de enzimas
CS	0,151	0,309
LDH	0,063	0,185
HOAD	0,081	0,211

De modo análogo aos outros tecidos já analisados, os resultados da Tabela 5.4.4 nos mostram que o ajuste dos modelos para as enzimas CS, LDH e HOAD foi prejudicado pela multicolinearidade existente entre as variáveis preditoras. Para solucionarmos tal problema, fizemos uma análise dos Gráficos B.2, B.3 e B.4 do mesmo modo que foi feito para a enzima PK no tecido do coração e, a partir dessa análise gráfica ajustamos um modelo para cada enzima. Para a enzima CS, foi ajustado um *modelo final* com taxas de crescimento das enzimas em relação à massa semelhantes para os animais dos grupos 2 e 3 e com taxas de crescimento das enzimas em relação

à massa também semelhantes para os animais dos grupos 4, 5 e 6. Tal modelo considerou ainda iguais interceptos para os grupos 2, 3, 5 e 6. Para a enzima LDH o *modelo final* considerou diferentes taxas de crescimento das enzimas em relação à massa para os animais dos grupos 4, 5 e 6. O *modelo final* para a enzima HOAD considerou iguais interceptos para os grupos 2 e 3 e uma taxa de crescimento das enzimas em relação à massa para os animais do grupo 2.

Para verificar a adequabilidade do *modelo final* proposto para cada enzima, foram apresentadas as somas de quadrado residual e o teste F parcial referentes ao *modelo 2* e ao *modelo final* (Tabela 5.4.5), que nos levam ajustar o *modelo final*.

Tabela 5.4.5 Soma dos Quadrados dos Resíduos para o *modelo 2* e para o *modelo final* e teste F parcial, para a razão LDH/proteína no tecido do fígado.

Ln (enzima/proteína)	Soma dos Quadrados dos Resíduos		
	<i>Modelo 2</i>	<i>Modelo final</i>	F parcial
CS	6,978	7,688	0,453
LDH	2,890	3,338	0,699
HOAD	8,372	8,935	0,261

A Tabela 5.4.6 traz as estimativas do *modelo final* para as enzimas CS, LDH e HOAD.

Tabela 5.4.6 Estimativas dos parâmetros do *modelo final* para as enzimas CS, LDH e HOAD.

Ln (enzima/proteína)	Coeficientes	Estimativas	Erro Padrão	Nível Descritivo
CS	μ	-2,172	0,186	< 0,001
	α	-0,107	0,058	0,073
	β_{2356}	-0,803	0,186	< 0,001
	α_{23}	0,243	0,058	< 0,001
	α_{456}	0,121	0,056	0,038
LDH	μ	-1,057	0,116	< 0,001
	α	0,059	0,019	0,003
	β_4	0,604	0,633	0,034
	α_4	-0,062	0,021	0,005
	α_5	-0,045	0,017	0,010
HOAD	α_6	-0,062	0,015	< 0,001
	μ	-3,482	0,169	< 0,001
	α	0,016	0,028	< 0,001
	β_4	0,991	0,220	< 0,001
	α_{23}	0,125	0,024	< 0,001

A Tabela 5.4.5 nos leva a concluir que quando a massa corpórea do animal do grupo 7 aumenta de 1 grama, o valor esperado do logaritmo natural da razão CS/proteína sofre um decréscimo de 0,107 (se adotarmos um nível de significância de 10%). Se considerarmos como variável resposta o logaritmo natural da razão CS/proteína, e tomarmos como referência o intercepto observado para o grupo 7 (-2,172), notamos um decréscimo de 0,803 ao compará-lo com o intercepto associado ao grupo 2356, onde o grupo 2356 corresponde ao grupo formado pelos animais dos grupos 2, 3, 5 e 6 conjuntamente. No caso da massa corpórea do animal ser aumentada de 1 grama, no grupo 23 ou no grupo 456 (grupo formado pelos animais dos grupos 4, 5 e 6), ocorrerão acréscimos de 0,243 e 0,121, respectivamente, no valor

esperado do logaritmo natural da razão CS/proteína em relação ao observado no grupo 7.

Se a massa do animal dos grupos 1, 2, 3, e 7 aumenta de 1 grama, o valor esperado do logaritmo natural da razão LDH/proteína sofre um acréscimo de 0,059. Tomando como referência o intercepto observado para o grupo 7 (-1,057), notamos um incremento de 0,604 ao compará-lo com o intercepto associado ao grupo 4. Quando a massa corpórea do animal é aumentada de 1 grama, no grupo 4, no grupo 5 ou no grupo 6, ocorrerão decréscimos de 0,062, 0,045 e 0,062, respectivamente, no valor esperado do logaritmo natural da razão LDH/proteína em relação ao observado nos grupos 1, 2, 3, e 7.

Quando a massa do animal dos grupos 1, 5, 6 e 7 aumenta de 1 grama, o valor esperado do logaritmo natural da razão HOAD/proteína sofre um acréscimo de 0,016. Se tomamos como referência o intercepto observado para os grupos 1, 5, 6 e 7 (-3,482), notamos um incremento de 0,991 ao compará-lo com o intercepto associado ao grupo 4. No caso da massa corpórea do animal ser aumentada de 1 grama, no grupo 23, ocorrerá um acréscimos de 0,125 no valor esperado do logaritmo natural da razão HOAD/proteína em relação ao observado nos grupos 1, 5, 6 e 7.

6. CONCLUSÕES

As principais conclusões da análise são:

6.1. CORAÇÃO

A ontogenia não acrescenta informação adicional significativa na explicação das alterações nas atividades das enzimas HOAD ($p=0,350$), ou seja, toda a explicação é dada pela variável massa corpórea.

Já para a razão PK/proteína, a ontogênese adiciona informação significativa na explicação do comportamento das razões enzimas/proteínas em relação a explicação devida apenas à massa corpórea ($p=0,006$).

Por outro lado o logaritmo natural das razões CS/proteínas e LDH/proteína não variam conforme a ontogenia, sendo constante e iguais a 0,780 (2,182 $\mu\text{mol}/\text{min} \cdot \text{mg proteína}$) ($p=0,426$) e $-1,593$ (0,203 $\mu\text{mol}/\text{min} \cdot \text{mg proteína}$) ($p=0,268$), respectivamente, durante todo o desenvolvimento do animal.

6.2. FÍGADO

No tecido do fígado, a variável massa corpórea explica, sozinha, todas as alterações nas atividades das enzimas CS ($p=0,372$). Enquanto que para as razões PK/proteína ($p<0,001$), LDH/proteína ($p=0,032$), e HOAD/proteína ($p<0,001$), os grupos de desenvolvimento contribuem com informação extra significativa na explicação da variação da quantidade de enzimas em função da massa.

6.3. MÚSCULO

Considerando o tecido muscular, temos que a ontogenia do animal acrescenta informação significativa na explicação das variações das quantidades das razões PK/proteína ($p<0,001$) e LDH/proteína ($p<0,001$) em função da massa. Além disso, concluímos ainda que a média do logaritmo natural da quantidade das razões CS/proteína e HOAD/proteína não variam conforme o desenvolvimento do animal, sendo constantes e iguais a $-2,700$ (0,067 $\mu\text{mol}/\text{min} \cdot \text{mg proteína}$) ($p=0,317$) e $-3,886$ (0,021 $\mu\text{mol}/\text{min} \cdot \text{mg proteína}$) ($p=0,672$), respectivamente.

6.5. INTESTINO

No intestino, a ontogênese traz informação extra significativa em função da massa corpórea para as razões CS/proteína ($p=0,003$), LDH/proteína ($p=0,018$) e HOAD/proteína ($p=0,001$). Enquanto que o logaritmo natural da quantidade da razão

PK/proteína ($p=0,763$) permanece constante e igual a -1,463 ao longo do desenvolvimento do animal.

Apêndice A

Tabela A.1 Tabela de médias e desvios padrão, por tecido, das razões enzimas/proteína por grupo de desenvolvimento.

Tecido	Razão Enzima/Proteína ($\mu\text{mol}/\text{min} \cdot \text{mg proteína}$)	Grupos													
		1		2		3		4		5		6		7	
		Média	D.P.	Média	D.P.	Média	D.P.	Média	D.P.	Média	D.P.	Média	D.P.	Média	D.P.
Intestino	PK/Proteína			0,23	0,05	0,23	0,03	0,25	0,07	0,25	0,03	0,21	0,02	0,25	0,03
	LDH/Proteína			0,55	0,18	0,56	0,20	0,65	0,27	0,62	0,16	0,35	0,07	0,41	0,12
	CS/Proteína			0,14	0,10	0,15	0,06	0,18	0,08	0,10	0,06	0,07	0,06	0,07	0,01
	HOAD/Proteína			0,10	0,07	0,11	0,06	0,13	0,04	0,07	0,04	0,05	0,05	0,04	0,01
Coração	PK/Proteína			1,02	0,35	1,48	0,47	1,35	0,49	1,10	0,27	1,04	0,48	0,53	0,21
	LDH/Proteína			1,92	0,63	2,73	0,86	2,58	0,79	2,42	0,70	2,67	1,51	1,80	0,78
	CS/Proteína			0,21	0,07	0,25	0,10	0,24	0,06	0,24	0,09	0,22	0,11	0,17	0,11
	HOAD/Proteína			0,12	0,04	0,16	0,06	0,16	0,04	0,14	0,05	0,12	0,05	0,09	0,05
Fígado	PK/Proteína	0,09	0,02	0,16	0,05	0,11	0,05	0,13	0,05	0,14	0,03	0,16	0,04	0,05	0,01
	LDH/Proteína	1,20	0,36	1,04	0,23	1,21	0,47	0,84	0,32	0,72	0,22	0,78	0,18	0,57	0,11
	CS/Proteína	0,04	0,02	0,04	0,01	0,03	0,01	0,04	0,01	0,03	0,01	0,03	0,01	0,03	0,01
	HOAD/Proteína	0,23	0,02	0,13	0,08	0,21	0,11	0,19	0,06	0,25	0,04	0,23	0,10	0,04	0,01
Músculo	PK/Proteína	0,66	0,14	0,80	0,19	0,75	0,31	0,71	0,20	1,05	0,51	1,79	1,03	1,90	0,70
	LDH/Proteína	1,42	0,54	2,09	0,44	1,60	0,57	2,33	0,59	3,10	1,64	5,37	4,14	5,98	2,31
	CS/Proteína	0,06	0,02	0,07	0,03	0,07	0,02	0,07	0,01	0,07	0,02	0,07	0,05	0,10	0,03
	HOAD/Proteína	0,03	0,02	0,02	0,01	0,03	0,02	0,02	0,01	0,02	0,00	0,02	0,01	0,02	0,01

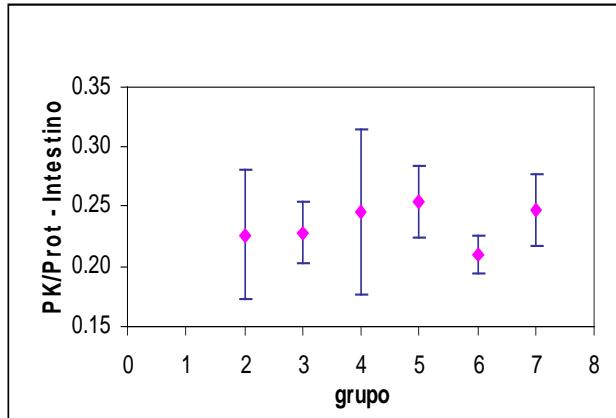


Gráfico A.1 Médias e desvios padrão da razão PK/Proteína ($\mu\text{mol}/\text{min} \cdot \text{mg proteína}$) por grupo de desenvolvimento para o tecido do trato gastro intestinal.

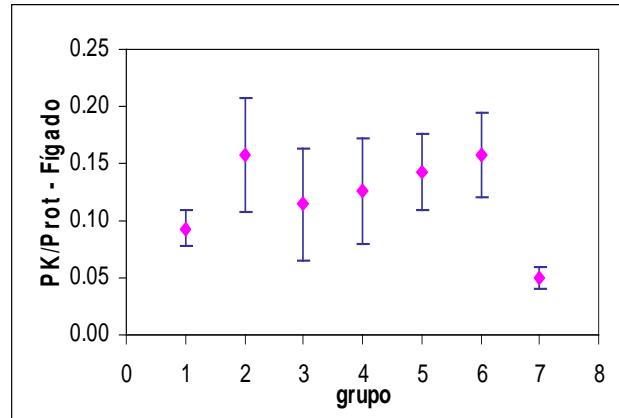


Gráfico A.3 Médias e desvios padrão da razão PK/Proteína ($\mu\text{mol}/\text{min} \cdot \text{mg proteína}$) por grupo de desenvolvimento para o tecido do fígado.

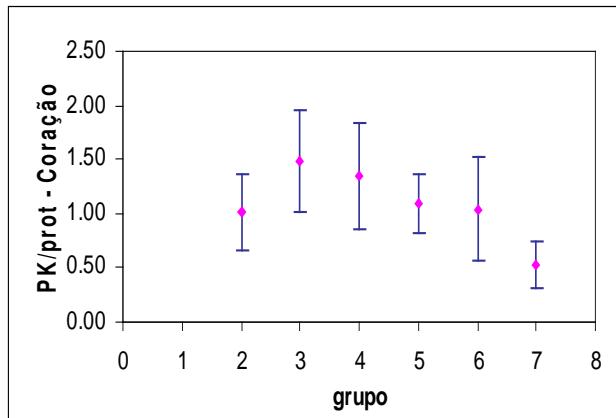


Gráfico A.2 Médias e desvios padrão da razão PK/Proteína ($\mu\text{mol}/\text{min} \cdot \text{mg proteína}$) por grupo de desenvolvimento para o tecido do coração.

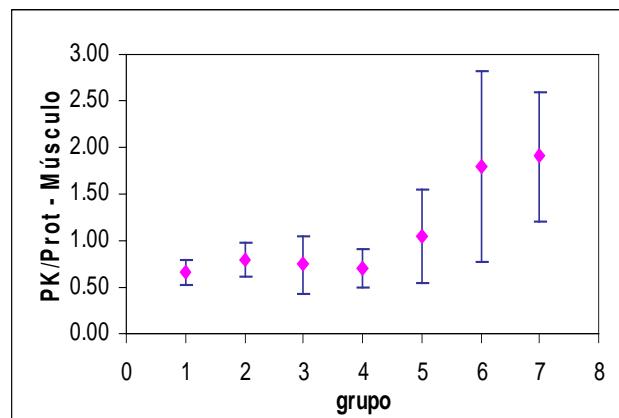


Gráfico A.4 Médias e desvios padrão da razão PK/Proteína ($\mu\text{mol}/\text{min} \cdot \text{mg proteína}$) por grupo de desenvolvimento para o tecido muscular.

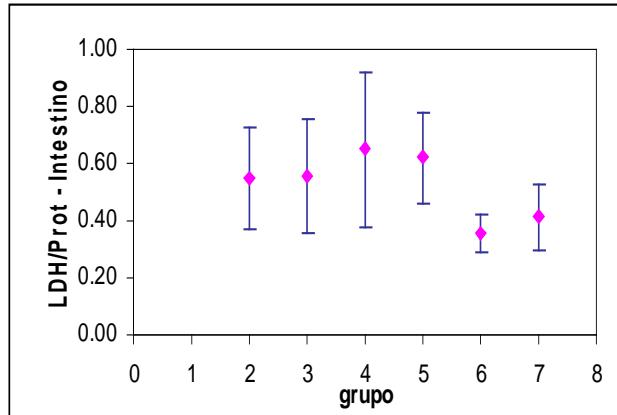


Gráfico A.5 Médias e desvios padrão da razão LDH/Proteína ($\mu\text{mol/min.mgproteína}$) por grupo de desenvolvimento para o tecido do trato gastro intestinal.

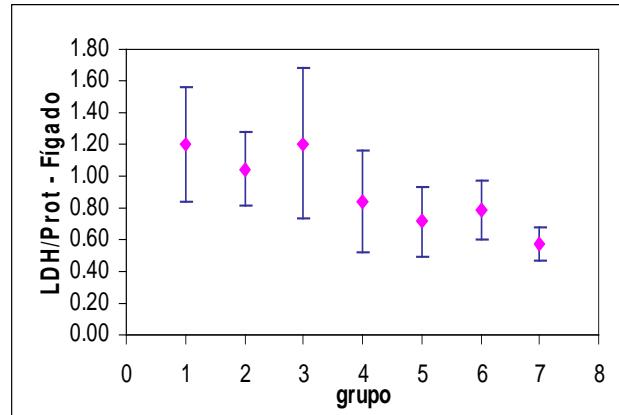


Gráfico A.7 Médias e desvios padrão da razão LDH/Proteína ($\mu\text{mol/min.mgproteína}$) por grupo de desenvolvimento para o tecido do fígado.

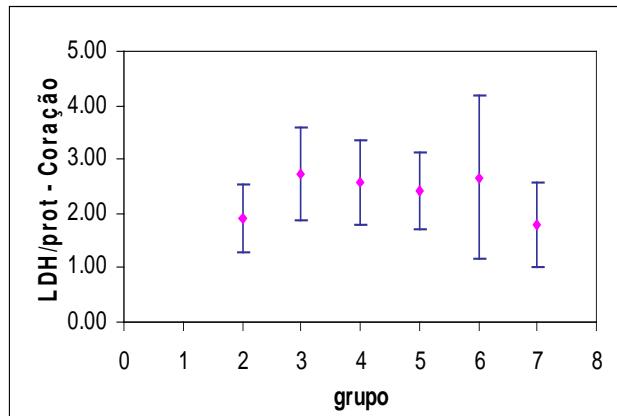


Gráfico A.6 Médias e desvios padrão da razão LDH/Proteína ($\mu\text{mol/min.mgproteína}$) por grupo de desenvolvimento para o tecido do coração.

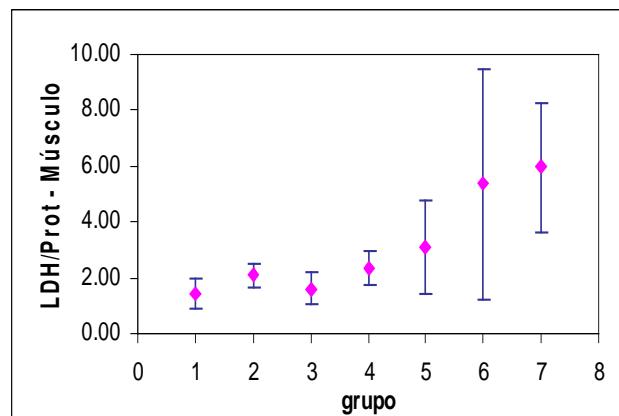


Gráfico A.8 Médias e desvios padrão da razão LDH/Proteína ($\mu\text{mol/min.mgproteína}$) por grupo de desenvolvimento para o tecido muscular.

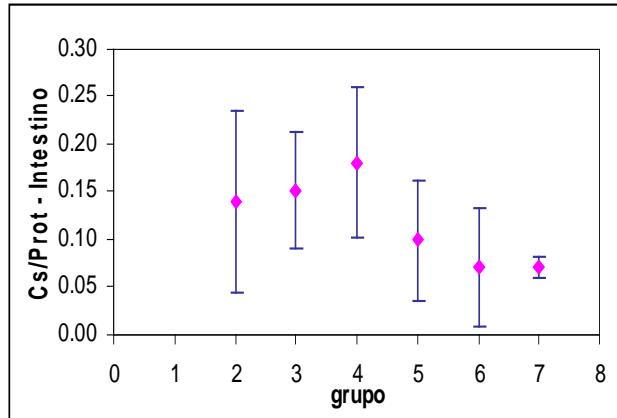


Gráfico A.9 Médias e desvios padrão da razão CS/Proteína ($\mu\text{mol}/\text{min}.\text{mgproteína}$) por grupo de desenvolvimento para o tecido do trato gastrointestinal.

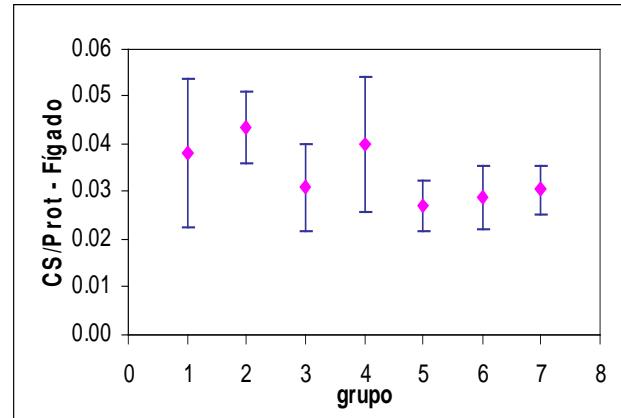


Gráfico A.11 Médias e desvios padrão da razão CS/Proteína ($\mu\text{mol}/\text{min}.\text{mgproteína}$) por grupo de desenvolvimento para o tecido do fígado.

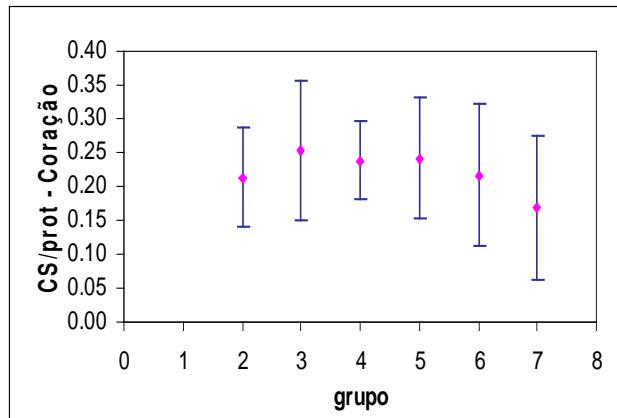
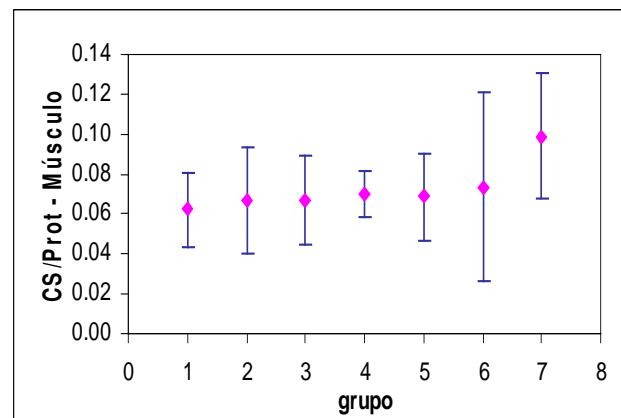


Gráfico A.10 Médias e desvios padrão da razão CS/Proteína ($\mu\text{mol}/\text{min}.\text{mgproteína}$) por grupo de desenvolvimento para o tecido do coração.



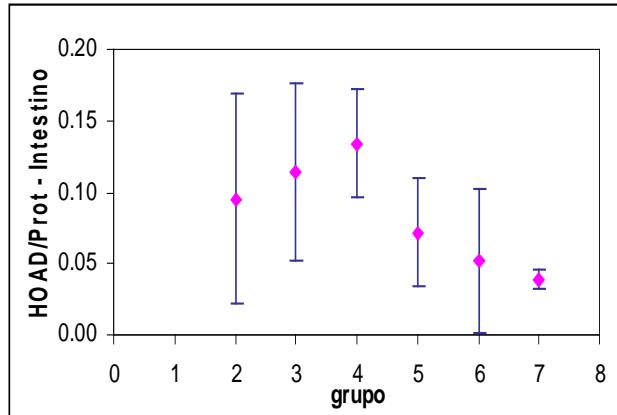


Gráfico A.13 Médias e desvios padrão da razão HOAD/Proteína ($\mu\text{mol}/\text{min}.\text{mgproteína}$) por grupo de desenvolvimento para o tecido do trato gastrointestinal.

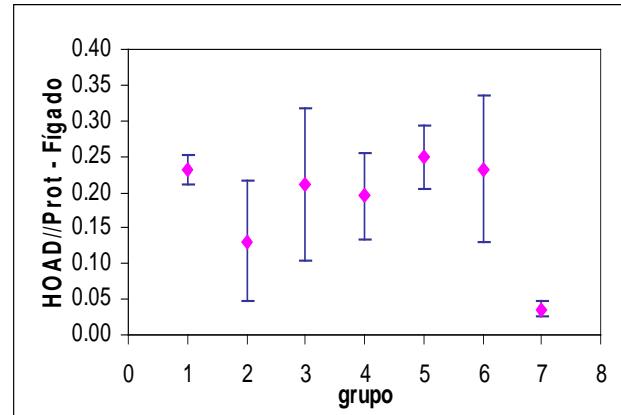


Gráfico A.15 Médias e desvios padrão da razão HOAD/Proteína ($\mu\text{mol}/\text{min}.\text{mgproteína}$) por grupo de desenvolvimento para o tecido do fígado.

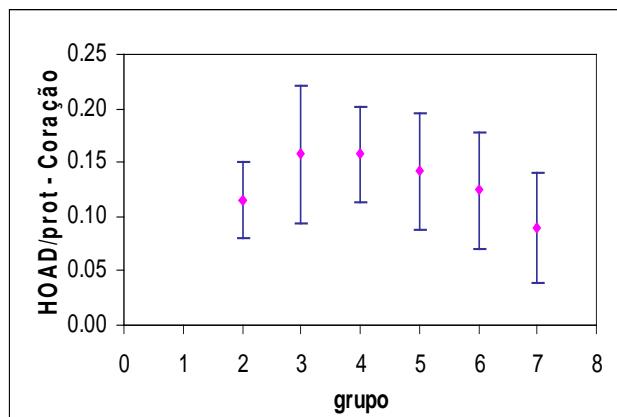


Gráfico A.14 Médias e desvios padrão da razão HOAD/Proteína ($\mu\text{mol}/\text{min}.\text{mgproteína}$) por grupo de desenvolvimento para o tecido do coração.

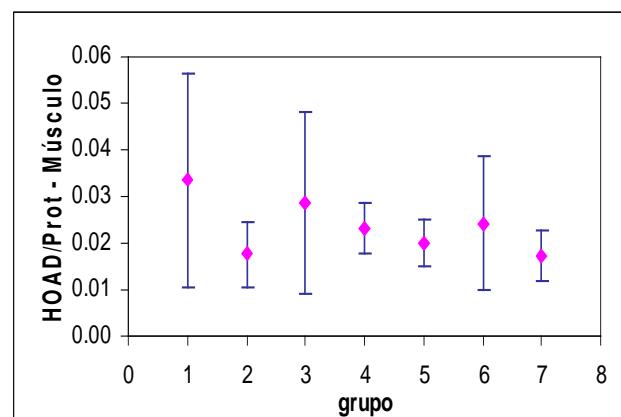


Gráfico A.16 Médias e desvios padrão da razão HOAD/Proteína ($\mu\text{mol}/\text{min}.\text{mgproteína}$) por grupo de desenvolvimento para o tecido muscular.

Apêndice B

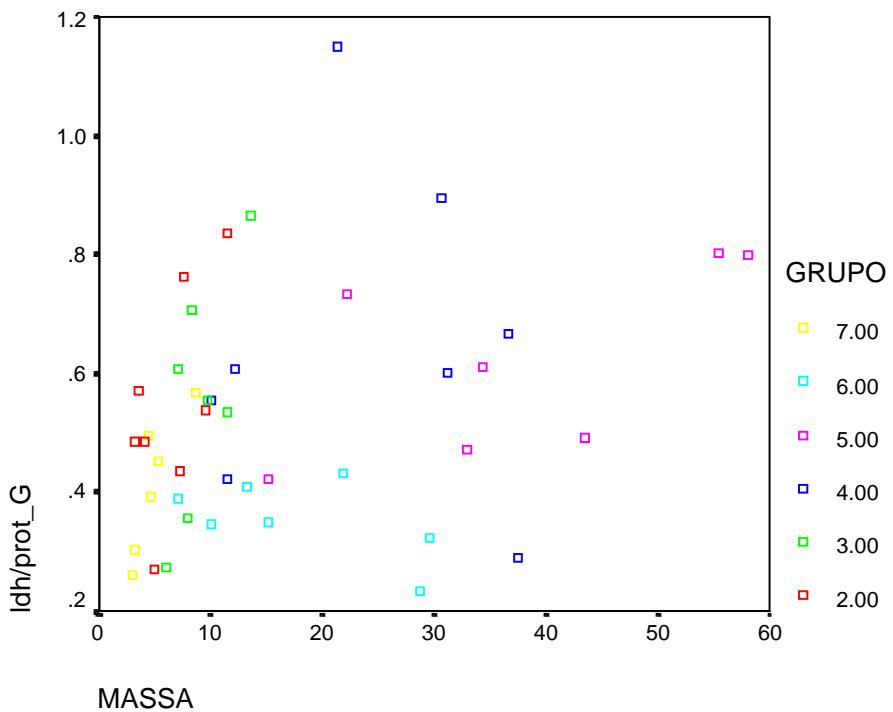
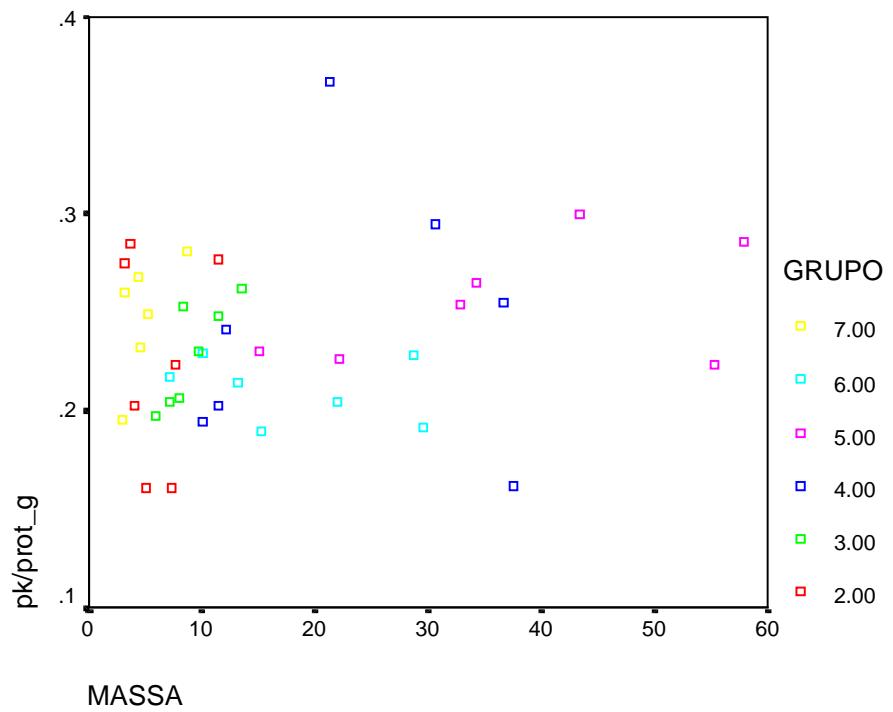


GRÁFICO B.2: Diagrama de dispersão LDH/Proteína do intestino ($\mu\text{mol}/\text{min}.\text{mgproteína}$) x Massa corpórea (g).

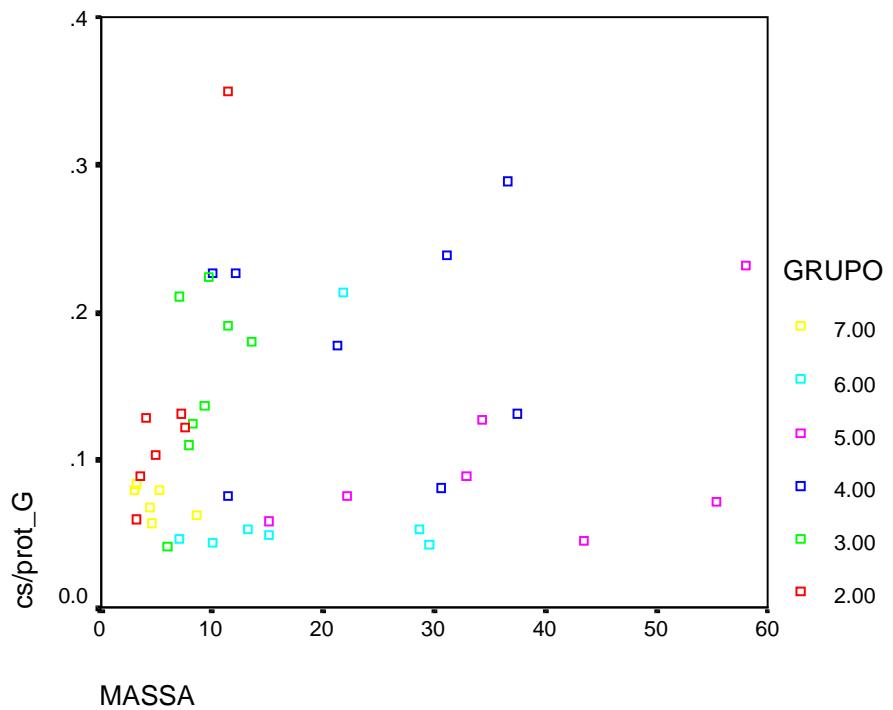


Gráfico B.3 Diagrama de dispersão CS/Proteína do intestino ($\mu\text{mol}/\text{min}.\text{mgproteína}$) x Massa corpórea (g).

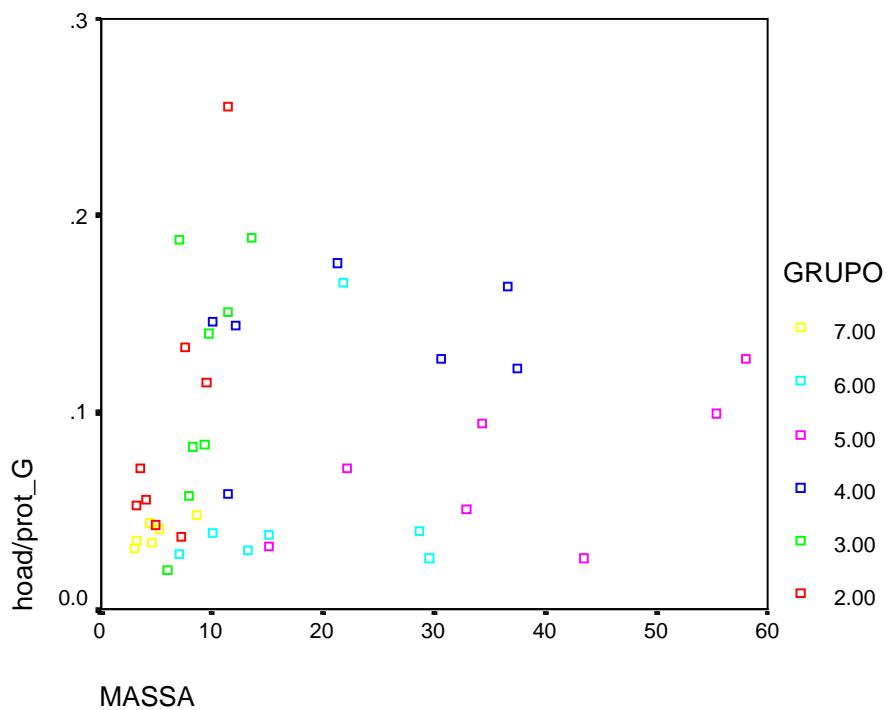


Gráfico B.4 Diagrama de dispersão HOAD/Proteína do intestino ($\mu\text{mol}/\text{min}.\text{mgproteína}$) x Massa corpórea (g).

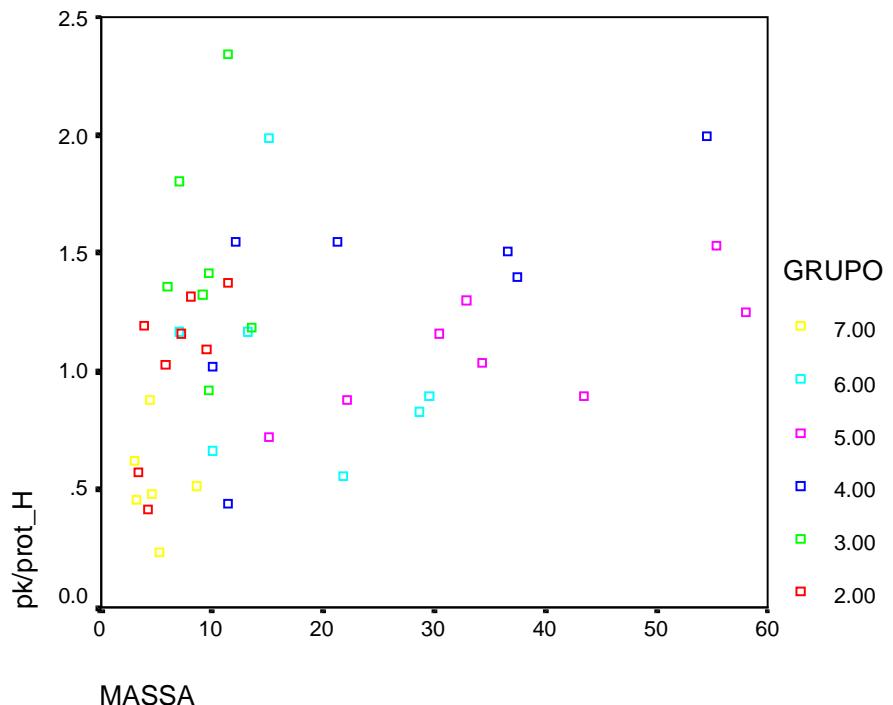


Gráfico B.5 Diagrama de dispersão PK/Proteína do coração ($\mu\text{mol}/\text{min} \cdot \text{mg proteína}$) x Massa corpórea (g).

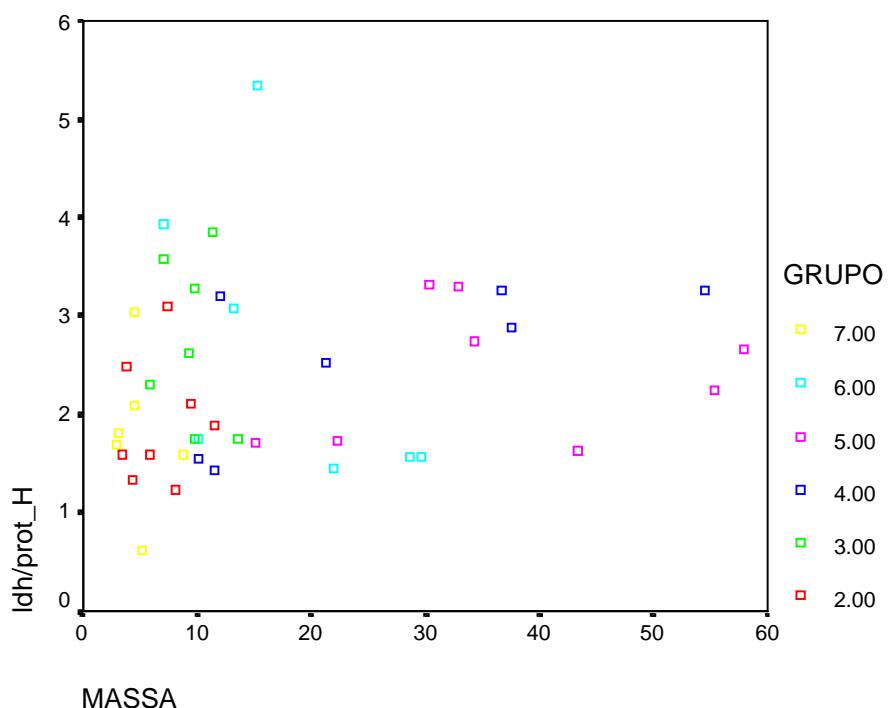


Gráfico B.6 Diagrama de dispersão LDH/Proteína do coração ($\mu\text{mol}/\text{min} \cdot \text{mg proteína}$) x Massa corpórea (g).

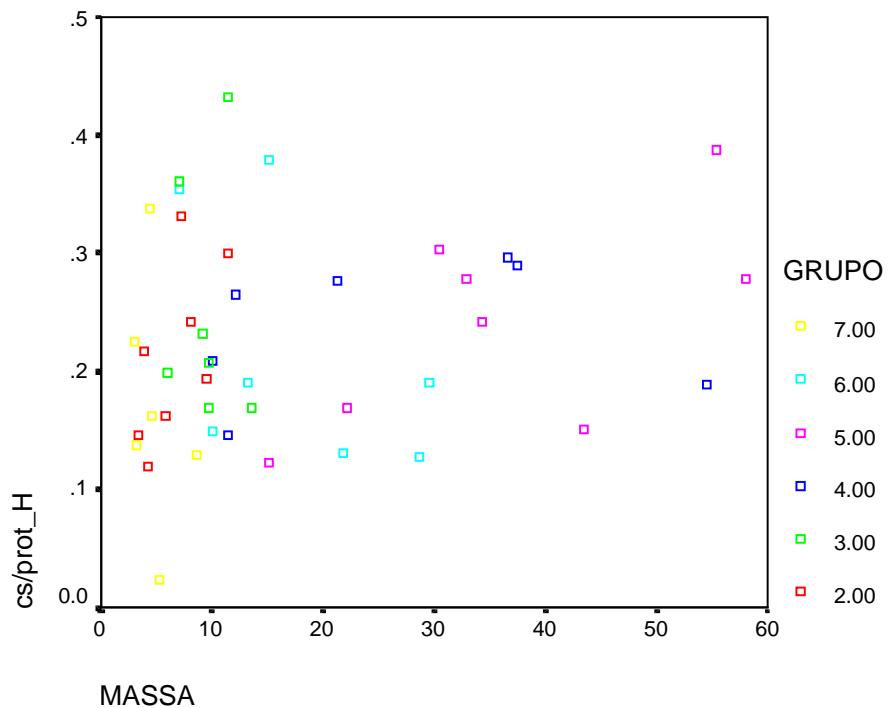


Gráfico B.7 Diagrama de dispersão CS/Proteína do coração ($\mu\text{mol}/\text{min}.\text{mgproteína}$) x Massa corpórea (g).

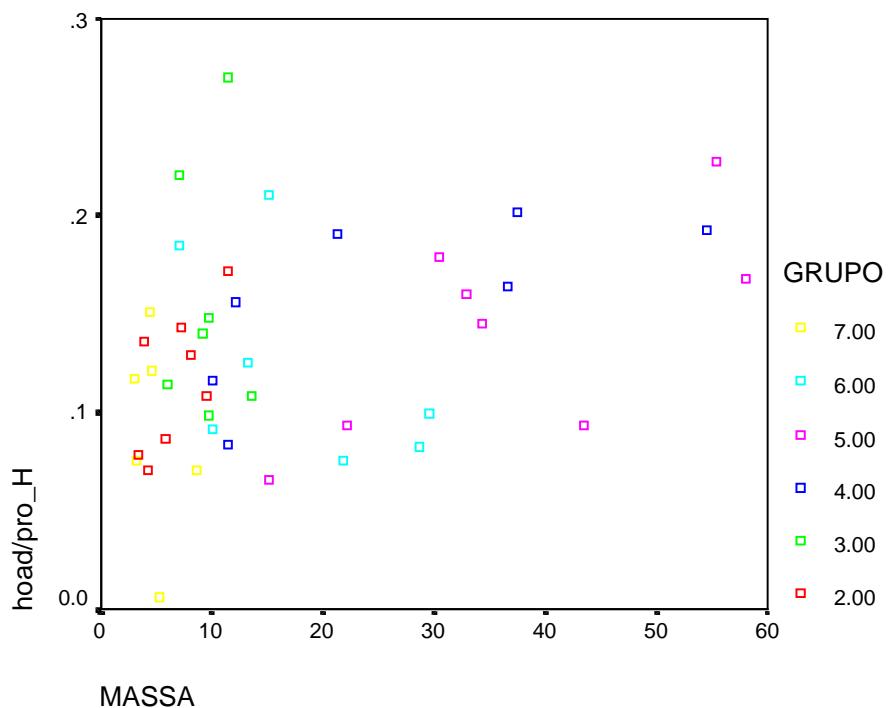


Gráfico B.8 Diagrama de dispersão HOAD/Proteína do coração ($\mu\text{mol}/\text{min}.\text{mgproteína}$) x Massa corpórea (g).

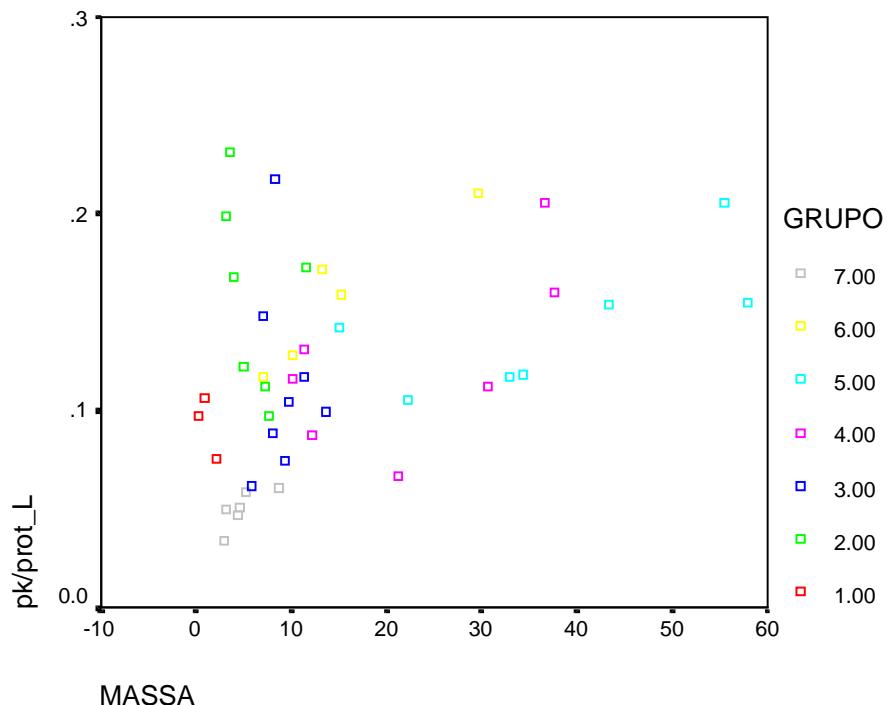


Gráfico B.9 Diagrama de dispersão PK/Proteína do fígado ($\mu\text{mol}/\text{min} \cdot \text{mg proteína}$) x Massa corpórea (g).

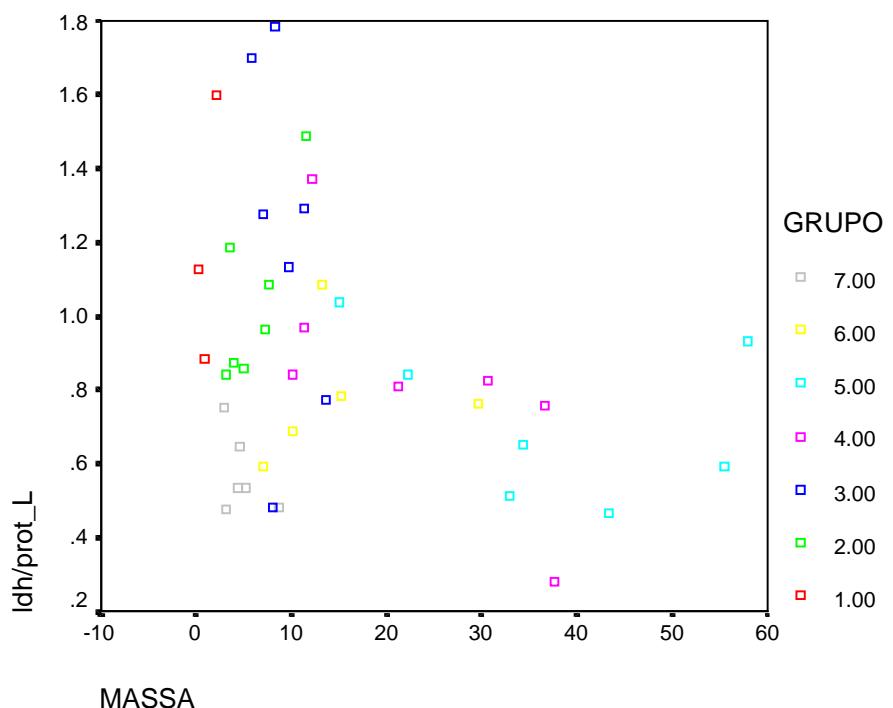


Gráfico B.10 Diagrama de dispersão LDH/Proteína do fígado ($\mu\text{mol}/\text{min} \cdot \text{mg proteína}$) x Massa corpórea (g).

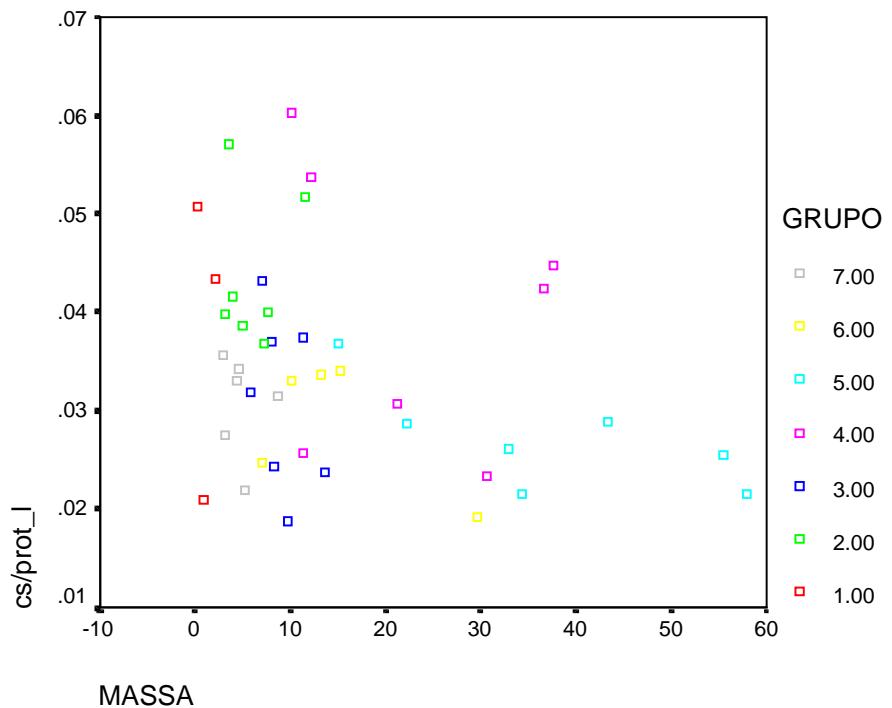


Gráfico B.11 Diagrama de dispersão CS/Proteína do fígado ($\mu\text{mol}/\text{min} \cdot \text{mg proteína}$) x Massa corpórea (g).

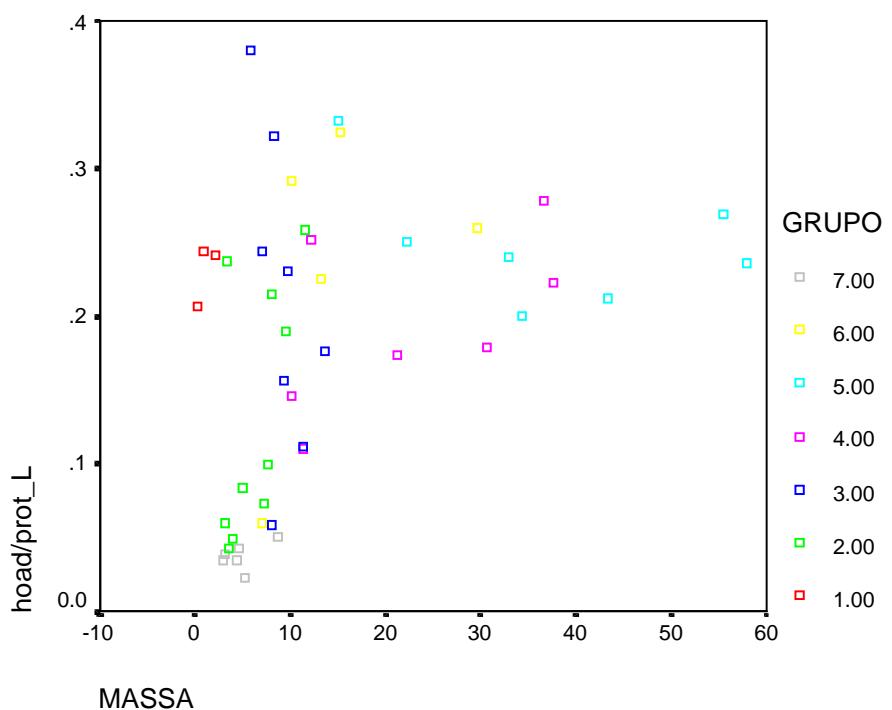


Gráfico B.12 Diagrama de dispersão HOAD/Proteína do fígado ($\mu\text{mol}/\text{min} \cdot \text{mg proteína}$) x Massa corpórea (g).

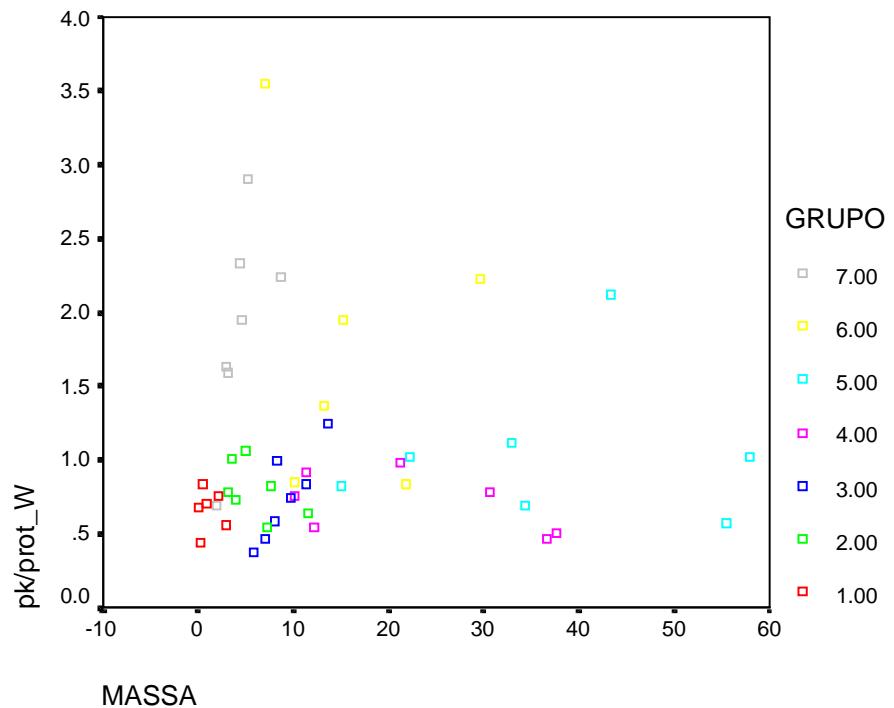


Gráfico B.13 Diagrama de dispersão PK/Proteína do tecido muscular ($\mu\text{mol}/\text{min} \cdot \text{mg proteína}$) x Massa corpórea (g).

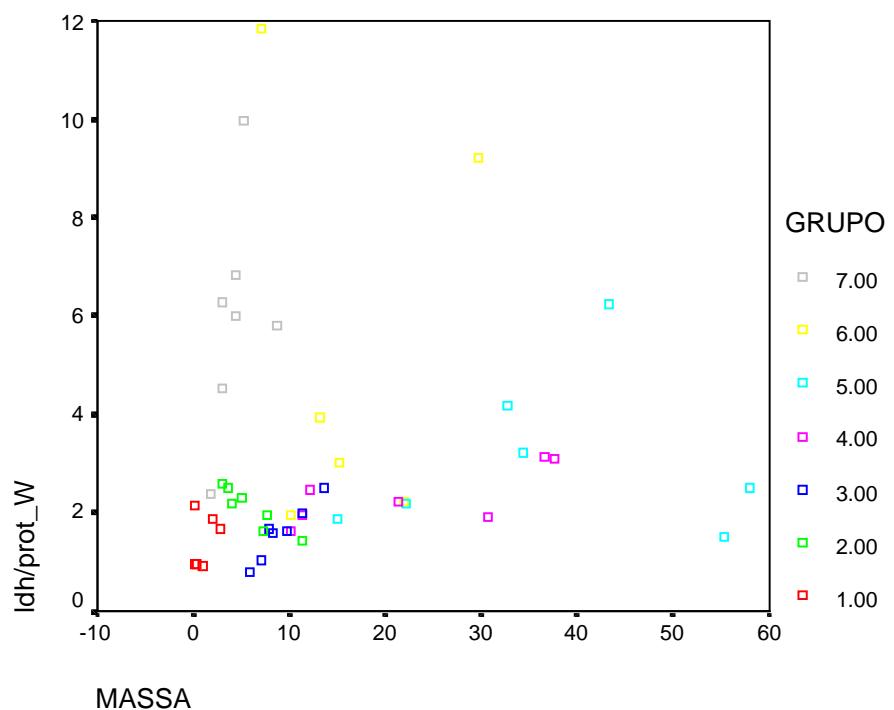


Gráfico B.14 Diagrama de dispersão LDH/Proteína do tecido muscular ($\mu\text{mol}/\text{min} \cdot \text{mg proteína}$) x Massa corpórea (g).

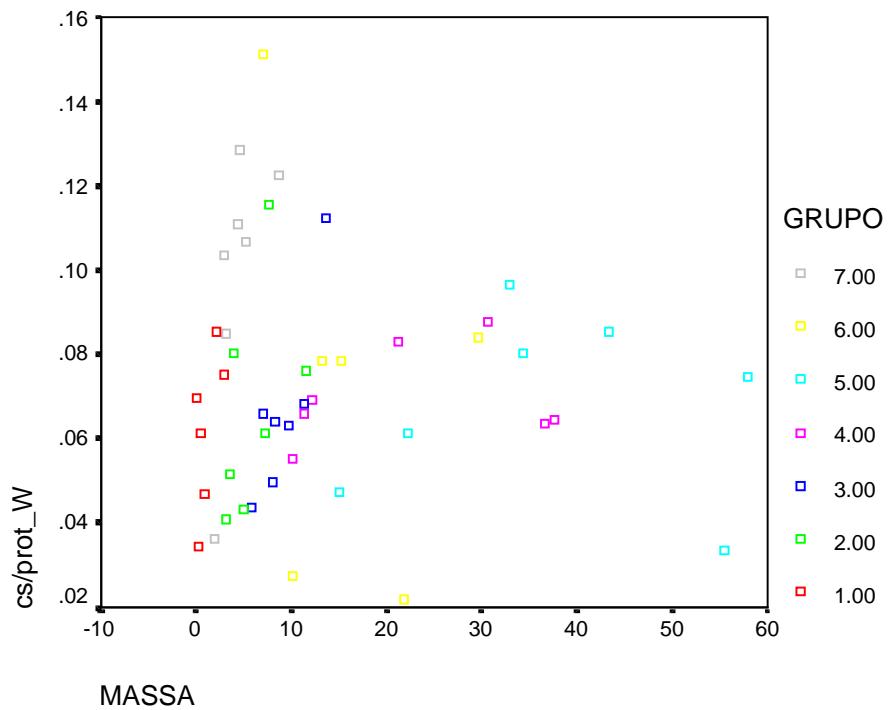


Gráfico B.15 Diagrama de dispersão CS/Proteína do tecido muscular ($\mu\text{mol}/\text{min}.\text{mgproteína}$) x Massa corpórea (g).

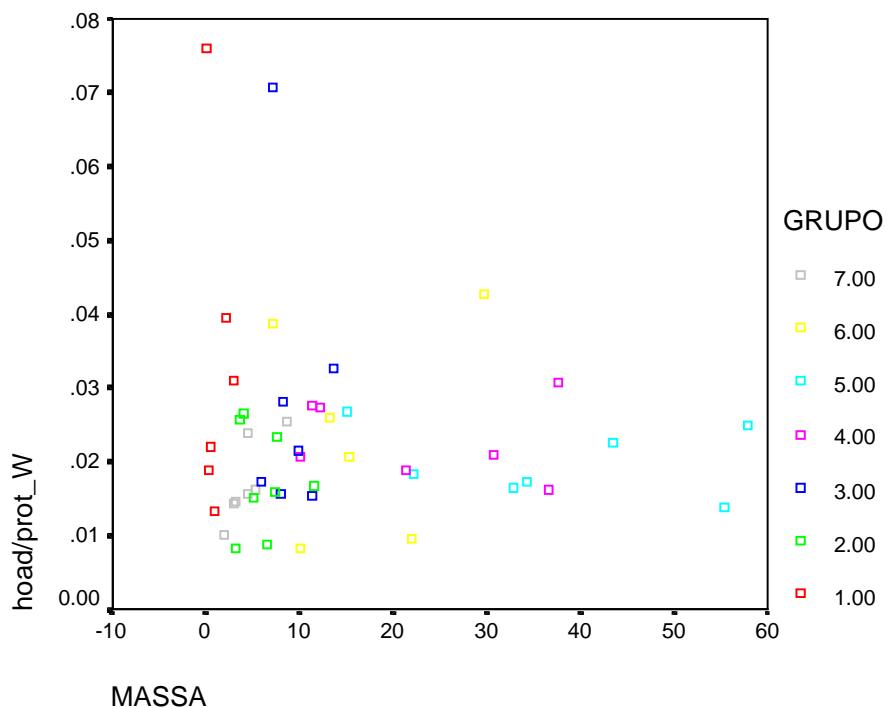


Gráfico B.16 Diagrama de dispersão HOAD/Proteína do tecido muscular ($\mu\text{mol}/\text{min}.\text{mgproteína}$) x Massa corpórea (g).

Apêndice C

Modelos utilizados na análise:

Modelo 1

$$LN(Y_{ij}) = \mu + \alpha M_{ij} + \varepsilon_{ij},$$

com $\varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$ independentes e $M_{ij} = m_{ij} - 1$ grama, onde

m_{ij} é a massa corpórea (g) do i-ésimo animal do grupo j;

Y_{ij} = razão enzima/proteína para o i-ésimo animal do j-ésimo grupo;

μ = valor esperado do logaritmo natural da razão enzima/proteína para animais com 1 grama de massa;

α = variação no valor esperado do logaritmo natural da razão enzima/proteína quando a massa do animal aumenta de 1 grama.

Modelo 2

$$LN(Y_{ij}) = \mu + \alpha M_{ij} + \sum_{j=1}^6 \beta_j X_{ij} + \sum_{j=1}^6 \alpha_j M_{ij} X_{ij} + \varepsilon_{ij} \text{ com } \varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$$

independentes,

$$M_{ij} = m_{ij} - 1 \text{ grama},$$

m_{ij} é a massa corpórea (g) do i-ésimo animal do grupo j;

$X_{ij} = 1$ se grupo j ou $X_{ij} = 0$ caso contrário;

Y_{ij} = razão enzima/proteína para o i-ésimo animal do j-ésimo grupo;

μ = valor esperado do logaritmo natural da razão enzima/proteína para animais do grupo 7 com 1 grama de massa;

α = variação no valor esperado da razão enzima/proteína quando a massa do animal do grupo 7 aumenta de 1 gram;

α_j = diferença entre a variação do logaritmo natural da razão enzima/proteína quando a massa do animal é aumentada de 1 grama no grupo j em relação ao grupo 7;

β_j = variação no valor esperado do logaritmo natural da razão enzima/proteína ao compararmos o intercepto associado ao grupo j quando tomamos como referência o intercepto do grupo 7.

Modelo 3

$$LN(Y_{ij}) = \mu + \alpha M_{ij} + \sum_{j=1}^6 \beta_j X_{ij} + \varepsilon_{ij} \text{ com } \varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2) \text{ independentes,}$$

$$M_{ij} = m_{ij} - 1 \text{ grama,}$$

m_{ij} é a massa corpórea (g) do i -ésimo animal do grupo j ;

$$X_{ij} = 1 \text{ se grupo } j \text{ ou } X_{ij} = 0 \text{ caso contrário,}$$

Y_{ij} = razão enzima/proteína para o i -ésimo animal do j -ésimo grupo;

μ = valor esperado do logaritmo natural da razão enzima/proteína para animais do grupo 7 com 1 grama de massa;

α = variação no valor esperado do logaritmo natural da razão enzima/proteína quando a massa do animal do grupo 7 aumenta de 1 grama;

β_j = variação no valor esperado do logaritmo natural da razão enzima/proteína ao compararmos o intercepto associado ao grupo j quando tomamos como referência o intercepto do grupo 7.

Modelo 4

$$LN(Y_{ij}) = \mu + \alpha M_{ij} + \sum_{j=1}^6 \alpha_j M_{ij} X_{ij} + \varepsilon_{ij} \text{ com } \varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2) \text{ independentes,}$$

$$M_{ij} = m_{ij} - 1 \text{ grama,}$$

m_{ij} é a massa corpórea (g) do i -ésimo animal do grupo j ;

$$X_{ij} = 1 \text{ se grupo } j \text{ ou } X_{ij} = 0 \text{ caso contrário;}$$

Y_{ij} = razão enzima/proteína para o i -ésimo animal do j -ésimo grupo;

μ = valor esperado da razão enzima/proteína para animais do grupo 7 com 1 grama de massa;

α = variação no valor esperado do logaritmo natural da razão enzima/proteína quando a massa do animal do grupo 7 aumenta de 1 grama;

α_j = diferença entre a variação do logaritmo natural da razão enzima/proteína quando a massa do animal é aumentada de 1 grama no grupo j em relação ao grupo 7.

Modelo final proposto para a enzima CS no tecido do intestino

$$LN(Y_{ij}) = \mu + \alpha M_{ij} + \beta_{2356} X_{i2356} + \alpha_{23} M_{i23} X_{i23} + \alpha_{456} M_{i456} X_{i456} + \varepsilon_{ij} \text{ com}$$

$$\varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2) \text{ independentes,}$$

$$M_{ij} = m_{ij} - 1 \text{ grama,}$$

m_{ij} é a massa corpórea (g) do i -ésimo animal do grupo j ;

$$X_{ij} = 1 \text{ se grupo } j \text{ ou } X_{ij} = 0 \text{ caso contrário;}$$

Y_{ij} = razão enzima/proteína para o i -ésimo animal do j -ésimo grupo;

μ = valor esperado do logaritmo natural da razão enzima/proteína para animais do grupo 7 com 1 grama de massa;

α = variação no valor esperado do logaritmo natural da razão enzima/proteína quando a massa do animal do grupo 7 aumenta de 1 grama;

α_{23} = diferença entre a variação do logaritmo natural da razão enzima/proteína quando a massa do animal é aumentada de 1 grama no grupo 23 em relação ao grupo 7, onde o grupo 23 corresponde ao grupo formado pelos animais dos grupos 2 e 3 conjuntamente;

α_{456} = diferença entre a variação do logaritmo natural da razão enzima/proteína quando a massa do animal é aumentada de 1 grama no grupo 456 em relação ao grupo 7, onde o grupo 456 corresponde ao grupo formado pelos animais dos grupos 4, 5 e 6 conjuntamente;

β_{2356} = variação no valor esperado do logaritmo natural da razão enzima/proteína ao compararmos o intercepto associado ao grupo 2356, onde o grupo 2356 corresponde ao grupo formado pelos animais dos grupos 2, 3, 5 e 6 conjuntamente, quando tomamos como referência o intercepto do grupo 7.

Modelo final proposto para a enzima PK no tecido do coração

$LN(Y_{ij}) = \mu + \alpha M_{ij} + \beta_3 X_{i3} + \beta_4 X_{i4} + \beta_6 X_{i6} + \alpha_2 M_{i2} X_{i2} + \alpha_{45} M_{i45} X_{i45} + \varepsilon_{ij}$ com
 $\varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$ independentes,

$M_{ij} = m_{ij} - 1$ grama,

m_{ij} é a massa corpórea (g) do i -ésimo animal do grupo j ;

$X_{ij} = 1$ se grupo j ou $X_{ij} = 0$ caso contrário,

Y_{ij} = razão enzima/proteína para o i -ésimo animal do j -ésimo grupo;

μ = valor esperado do logaritmo natural da razão enzima/proteína para animais do grupo 7 com 1 grama de massa;

α = variação no valor esperado do logaritmo natural da razão enzima/proteína quando a massa do animal do grupo 7 aumenta de 1 grama;

α_2 = diferença entre a variação do logaritmo natural da razão enzima/proteína quando a massa do animal é aumentada de 1 grama no grupo 2 em relação ao grupo 7;

α_{45} = diferença entre a variação do logaritmo natural da razão enzima/proteína quando a massa do animal é aumentada de 1 grama no grupo 45 em relação ao grupo 7, onde o grupo 456 corresponde ao grupo formado pelos animais dos grupos 4 e 5 conjuntamente;

β_j = variação no valor esperado do logaritmo natural da razão enzima/proteína ao compararmos o intercepto associado ao grupo j , quando tomamos como referência o intercepto do grupo 7.

Modelo final proposto para a enzima LDH no tecido do fígado

$LN(Y_{ij}) = \mu + \alpha M_{ij} + \beta_3 X_{i3} + \beta_4 X_{i4} + \alpha_2 M_{i2} X_{i2} + \alpha_5 M_{i5} X_{i5} + \alpha_6 M_{i6} X_{i6} + \varepsilon_{ij}$ com
 $\varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$ independentes,

$M_{ij} = m_{ij} - 1$ grama,

m_{ij} é a massa corpórea (g) do i-ésimo animal do grupo j;

$X_{ij} = 1$ se grupo j ou $X_{ij} = 0$ caso contrário;

Y_{ij} = razão enzima/proteína para o i-ésimo animal do j-ésimo grupo;

μ = valor esperado do logaritmo natural da razão enzima/proteína para animais do grupo 7 com 1 grama de massa;

α = variação no valor esperado do logaritmo natural da razão enzima/proteína quando a massa do animal do grupo 7 aumenta de 1 grama;

α_j = diferença entre a variação do logaritmo natural da razão enzima/proteína quando a massa do animal é aumentada de 1 grama no grupo j em relação ao grupo 7;

β_j = variação no valor esperado do logaritmo natural da razão enzima/proteína ao compararmos o intercepto associado ao grupo j, quando tomamos como referência o intercepto do grupo 7.

Modelo final proposto para a enzima LDH no tecido do intestino

$$LN(Y_{ij}) = \mu + \alpha M_{ij} + \beta_4 X_{i4} + \alpha_4 M_{i4} X_{i4} + \alpha_5 M_{i5} X_{i5} + \alpha_6 M_{i6} X_{i6} + \varepsilon_{ij} \text{ com}$$

$\varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$ independentes,

$M_{ij} = m_{ij} - 1$ grama,

m_{ij} é a massa corpórea (g) do i-ésimo animal do grupo j;

$X_{ij} = 1$ se grupo j ou $X_{ij} = 0$ caso contrário;

Y_{ij} = razão enzima/proteína para o i-ésimo animal do j-ésimo grupo;

μ = valor esperado do logaritmo natural da razão enzima/proteína para animais do grupo 7 com 1 grama de massa;

α = variação no valor esperado do logaritmo natural da razão enzima/proteína quando a massa do animal do grupo 7 aumenta de 1 grama;

α_j = diferença entre a variação do logaritmo natural da razão enzima/proteína quando a massa do animal é aumentada de 1 grama no grupo j em relação ao grupo 7;

β_j = variação no valor esperado do logaritmo natural da razão enzima/proteína ao compararmos o intercepto associado ao grupo j , quando tomamos como referência o intercepto do grupo 7.

Modelo final proposto para a enzima HOAD no tecido do intestino

$LN(Y_{ij}) = \mu + \alpha M_{ij} + \beta_4 X_{i4} + \alpha_{23} M_{i23} X_{i23} + \varepsilon_{ij}$ com $\varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$ independentes,

$M_{ij} = m_{ij} - 1$ grama,

m_{ij} é a massa corpórea (g) do i -ésimo animal do grupo j ;

$X_{ij} = 1$ se grupo j ou $X_{ij} = 0$ caso contrário;

Y_{ij} = razão enzima/proteína para o i -ésimo animal do j -ésimo grupo;

μ = valor esperado do logaritmo natural da razão enzima/proteína para animais do grupo 7 com 1 grama de massa;

α = variação no valor esperado do logaritmo natural da razão enzima/proteína quando a massa do animal do grupo 7 aumenta de 1 grama;

α_j = diferença entre a variação do logaritmo natural da razão enzima/proteína quando a massa do animal é aumentada de 1 grama no grupo j em relação ao grupo 7;

β_j = variação no valor esperado do logaritmo natural da razão enzima/proteína ao compararmos o intercepto associado ao grupo j , quando tomamos como referência o intercepto do grupo 7.

Apêndice D

Tabela D.1 Estimativas do *modelo 4* para as razões LDH/proteína e HOAD/proteína do tecido do intestino.

Ln (enzima/proteína)	Coeficientes	Estimativas	Erro Padrão	Nível Descritivo
LDH	μ	-0,938	0,119	< 0,001
	α	-0,027	0,040	0,505
	α_2	0,014	0,037	0,461
	α_3	0,012	0,036	0,688
	α_4	0,015	0,037	0,754
	α_5	0,030	0,038	0,694
	α_6	0,035	0,037	0,353
HOAD	μ	-3,271	0,200	< 0,001
	α	0,015	0,066	0,821
	α_2	0,122	0,062	0,055
	α_3	0,103	0,059	0,092
	α_4	0,031	0,063	0,626
	α_5	-0,001	0,064	0,991
	α_6	-0,009	0,062	0,889

Tabela D.2 Estimativas do modelo 3 para as razões PK/proteína e HOAD/proteína do tecido do fígado.

Ln (enzima/proteína)	Coeficientes	Estimativas	Erro Padrão	Nível Descriutivo
PK	μ	-3,059	0,119	< 0,001
	α	0,013	0,005	0,022
	β_1	0,671	0,203	0,002
	β_2	1,102	0,159	< 0,001
	β_3	0,712	0,156	< 0,001
	β_4	0,645	0,186	0,001
	β_5	0,619	0,236	0,013
	β_6	1,006	0,182	< 0,001
HOAD	μ	-3,362	0,208	< 0,001
	α	0,009	0,009	0,304
	β_1	1,890	0,357	< 0,001
	β_2	1,068	0,260	< 0,001
	β_3	1,582	0,274	< 0,001
	β_4	1,467	0,327	< 0,001
	β_5	1,603	0,414	< 0,001
	β_6	1,623	0,319	< 0,001

Tabela D.3 Estimativas do *modelo 3* para as razões PK/proteína e LDH/proteína do tecido muscular.

Ln (enzima/proteína)	Coeficientes	Estimativas	Erro Padrão	Nível Descritivo
PK	μ	0,574	0,153	0,001
	α	-0,002	0,007	0,747,
	β_1	-1,011	0,223	< 0,001
	β_2	-0,812	0,214	< 0,001
	β_3	-0,925	0,216	< 0,001
	β_4	-0,905	0,253	0,001
	β_5	-0,520	0,324	0,116
LDH	β_6	-0,089	0,239	0,711
	μ	1,686	0,168	< 0,001
	α	0,008	0,008	0,330
	β_1	-1,400	0,246	< 0,001
	β_2	-1,010	0,235	< 0,001
	β_3	-1,345	0,238	< 0,001
	β_4	-1,042	0,279	0,001
	β_5	-0,955	0,357	0,011
	β_6	-0,367	0,263	0,170