INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA - INPA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS – UFAM
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA TROPICAL E RECURSOS NATURAIS – PPBTRN
BIOLOGIA DE ÁGUA DOCE E PESCA INTERIOR - BADPI

HEMATOLOGIA E BIOQUÍMICA SANGÜÍNEA DO BOTO VERMELHO *Inia geoffrensis* (de Blainville, 1817)

DANIELA MAGALHÃES DRUMMOND DE MELLO

MANAUS – AM
2006

Livros Grátis

http://www.livrosgratis.com.br

Milhares de livros grátis para download.

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA - INPA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS – UFAM
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA TROPICAL E RECURSOS NATURAIS – PPBTRN
BIOLOGIA DE ÁGUA DOCE E PESCA INTERIOR - BADPI

HEMATOLOGIA E BIOQUÍMICA SANGÜÍNEA DO BOTO VERMELHO *Inia geoffrensis* (de Blainville, 1817)

DANIELA MAGALHÃES DRUMMOND DE MELLO

ORIENTADORA: Dra. VERA MARIA FERREIRA DA SILVA

Dissertação apresentada ao Programa Integrado de Pós-Graduação em Biologia Tropical e Recursos Naturais do convênio INPA/UFAM, como requisito para obtenção do título de Mestre em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS, curso de Biologia de Água Doce e Pesca Interior.

FONTE FINANCIADORA: PPI: 1-3920
CAPES
Projeto Boto Vermelho

MANAUS – AM
2006

i– FICHA CATALOGRÁFICA

Magalhães Drummond de Mello, Daniela
Hematologia e bioquímica sangüínea do boto vermelho Inia geoffrensis (de Blainville, 1817)/Daniela Magalhães Drummond de Mello – 2006.
vii, 112f.
Dissertação (mestrado) – INPA/UFAM, 2006
Orientadora: da Silva, Vera Maria Ferreira

1. Hematologia 2. Bioquímica sangüínea 3. Parâmetros 4. Sangue 5. *Inia geoffrensis* 6. Boto vermelho

SINOPSE:
O boto vermelho (*Inia geoffrensis*) é endêmico e amplamente distribuído nas bacias dos rios Amazonas e Orinoco. O presente trabalho reporta os parâmetros hematológicos e bioquímicos de 109 botos de vida livre da Reserva de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá. As colheitas foram realizadas durante o mês de novembro de 2004 e 2005. Poucas diferenças foram encontradas entre machos e fêmeas, com exceção da concentração hemoglobínica corpuscular média (CHCM) e da atividade sérica da fosfatase alcalina, ambas maiores nos machos. Animais jovens em fase de crescimento apresentaram caracteristicamente maiores níveis de cálcio e maior atividade sérica de fosfatase alcalina, ambos associados ao desenvolvimento contínuo dos ossos. Os filhotes também apresentaram maior atividade sérica da creatina quinase (CK), maior porcentagem de linfócitos, e maior número de leucócitos. Apenas a velocidade de hemossedimentação (VHS) e a porcentagem de eosinófilos foram maiores nos adultos. Fêmeas prenhes apresentaram caracteristicamente níveis séricos mais elevados de quatro elementos envolvidos no metabolismo energético: albumina, amilase, colesterol e triglicérides; e também de uréia, provavelmente como resultado de um maior consumo de proteínas. O congelamento do soro por 60 dias provocou alterações significativas em 13 dos 19 elementos bioquímicos analisados. Houve uma redução da atividade sérica de aspartato transaminase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e fosfatase alcalina e dos níveis séricos de albumina, cálcio, colesterol, ferro, glicose, magnésio e uréia. Já os níveis de bilirrubina indireta, bilirrubina total e de atividade da gama glutamil transferase (GGT) apresentaram-se maiores após congelamento das amostras por 60 dias. A correlação positiva encontrada entre o número de leucócitos e a freqüência respiratória foi influenciada pelo maior número destas células nos filhotes, bem como a freqüência respiratória naturalmente mais elevada nesta classe etária.

ii – AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar à minha orientadora Vera Maria Ferreira da Silva, pelo estímulo e ensinamentos ao longo destes dois anos de convivência.

Dr. Anthony Martin pelo apoio do Projeto Boto para que este estudo fosse realizado e por ceder a foto do boto vermelho. Também por agüentar horas e horas o barulho do gerador durante as capturas.

A CAPES pela concessão da bolsa de estudos durante dois anos de pesquisa.

À coordenadora de Curso de Biologia de água Doce e Pesca Interior Ângela Varella e também, Carminha e Elany pela disposição em sempre ajudar a todos.

Ao professor Carlos Edwar pelas dicas em estatística.

Ao pessoal do Laboratório de Análises Clínicas do HEMOAM, especialmente Fabiana e Lorena.

Ao Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá pelo apoio logístico durante o período de colheita.

Agradeço à minha mãezona, como já disse mil vezes, meu grande exemplo de vida, por estar sempre presente mesmo que de longe.

A meu pai por estar sempre me apoiando e acreditando no meu trabalho.

Agradeço aos meus irmãos, Ricardo, Marcelo e Maurício e suas respectivas "patroas". Também totó e Sobrinhos "tatu" e Bia (e mais um que está chegando), obrigada pela força, mesmo que telepática às vezes.

Ao meu namorado, César, que esteve ao meu lado todo o tempo me apoiando, e disposto a me ajudar a qualquer hora do dia ou da noite.

Agradeço a toda "equipe boto" de 2004 e 2005: Os pescadores que conhecem os botos como ninguém, Cláudia Berimbau, Flávio, Ro, Trish, e os estagiários Priscila e Daniel.

A amiga Bernadete Fragoso (Benalet/Berna) que foi meu braço direito durante a colheita de 2005.

Aos colegas do Laboratório de Mamíferos Aquáticos: Fernando Rosas, Gália, Yara, Anselmo, Nildon, Andréa, Dani tucuxi, André "Tija", Carla Barezani, Carlinha, Sihame, Márcia Munick e Nataly, pelos ensinamentos e convivência durante estes dois anos.

Aos colegas do BADPI, especialmente Rodrigo, Léo, Ciclone, Fábio e Daniel Previatelli por me garantirem boas risadas nestes dois anos de convivência.

Aos colegas de república, “a nossa casinha”, Thaís, Dani tucuxi, Daniel Pimpão, Larissa, Ciclone, Thaíssa, Renato “capacete”, Sílvia e Tênia por tornarem o dia-a-dia em momentos de descontração.

SUMÁRIO

i– FICHA CATALOGRÁFICA
ii – AGRADECIMENTOS
iv – LISTA DE FIGURAS
v – LISTA DE TABELAS
vi– RESUMO
vii - ABSTRACT
1. INTRODUÇÃO..... 01
1.1. HEMATOLOGIA..... 03
1.2. BIOQUÍMICA SANGÜÍNEA..... 08
1.3. OBJETIVOS..... 12
2. MATERIAL E MÉTODOS
2.1. ÁREA DE ESTUDO..... 13
2.2. CAPTURA DOS BOTOS..... 14
2.3. CLASSES ETÁRIAS..... 15
2.4. ANÁLISES HEMATOLÓGICAS
2.4.1. COLHEITA E ARMAZENAMENTO DO SANGUE..... 15
2.4.2. HEMATÓCRITO..... 16
2.4.3. CONTAGEM DE HEMÁCIAS..... 16
2.4.4. CONTAGEM TOTAL DOS LEUCÓCITOS..... 18
2.4.5. CONTAGEM DIFERENCIAL DOS LEUCÓCITOS..... 18
2.4.6. CONTAGEM DE PLAQUETAS..... 19
2.4.7. VELOCIDADE DE HEMOSSEDIMENTAÇÃO..... 19
2.4.8. ÍNDICES HEMATIMÉTRICOS..... 20
2.4.9. DOSAGEM DA HEMOGLOBINA..... 20
2.5. BIOQUÍMICA SANGÜÍNEA..... 21
2.6. FREQÜÊNCIA CARDÍACA E RESPIRATÓRIA..... 23
2.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA..... 23
3. RESULTADOS..... 24
3.1. ANÁLISE HEMATOLÓGICA..... 25
3.1.1. COMPARAÇÃO ENTRE MACHOS E FÊMEAS..... 26

3.1.2. COMPARAÇÃO ENTRE CLASSES ETÁRIAS
3.1.2.1. Hematócrito..... 29
3.1.2.2. Contagem de hemácias..... 29
3.1.2.3. Hemoglobina..... 30
3.1.2.4. Volume Corpuscular Médio (VCM)..... 31
3.1.2.5. Concentração Hemoglobínica Corpuscular Média (CHCM)..... 32
3.1.2.6. Plaquetas..... 32
3.1.2.7. Velocidade de Hemossedimentação..... 33
3.1.2.8. Contagem Total dos Leucócitos..... 34
3.1.2.9. Contagem Diferencial dos Leucócitos..... 36
3.1.3. COMPARAÇÃO ENTRE FÊMEAS PRENHES E VAZIAS..... 43
3.2. ANÁLISE BIOQUÍMICA..... 44
3.2.1. COMPARAÇÃO ENTRE MACHOS E FÊMEAS..... 45
3.2.2. COMPARAÇÃO ENTRE AS CLASSES ETÁRIAS..... 47
3.2.2.1. Albumina..... 47
3.2.2.2. Alanina aminotransferase (ALT)..... 48
3.2.2.3. Amilase..... 49
3.2.2.4. Aspartato transaminase (AST)..... 50
3.2.2.5. Bilirrubina Direta..... 51
3.2.2.6. Bilirrubina Indireta..... 52
3.2.2.7. Bilirrubina Total..... 52
3.2.2.8. Cálcio..... 53
3.2.2.9. Creatina quinase (CK)..... 55
3.2.2.10. Colesterol..... 57
3.2.2.11. Creatina..... 58
3.2.2.12. Desidrogenase lática (DHL)..... 59
3.2.2.13. Fosfatase Alcalina..... 60
3.2.2.14. Ferro..... 62
3.2.2.15. Gama glutamil transferase (GGT)..... 63
3.2.2.16. Glicose..... 64
3.2.2.17. Magnésio..... 65
3.2.2.18. Proteínas Totais..... 66

3.2.2.19. Triglicérides..... 67
3.2.2.20. Uréia..... 68
3.2.3. COMPARAÇÃO ENTRE FÊMEAS PRENHES E VAZIAS..... 69
3.2.4. CONGELAMENTO DO SORO..... 70
3.3. FREQÜÊNCIA CARDÍACA E RESPIRATÓRIA..... 72
4. DISCUSSÃO
4.1. Análise hematológica..... 74
4.1.1. Hematócrito..... 74
4.1.2. Contagem de hemácias..... 75
4.1.3. Hemoglobina..... 76
4.1.4. Volume Corpuscular Médio (VCM)..... 77
4.1.5. Concentração Hemoglobínica Corpuscular Média (CHCM)..... 78
4.1.6. Plaquetas..... 80
4.1.7. Velocidade de Hemossedimentação..... 81
4.1.8. Contagem Total dos Leucócitos..... 81
4.1.9. Contagem Diferencial dos Leucócitos..... 82
4.2. ANÁLISE BIOQUÍMICA
4.2.1. Proteínas Totais..... 87
4.2.2. Albumina..... 88
4.2.3. Cálcio..... 89
4.2.4. Magnésio..... 91
4.2.5. Uréia..... 91
4.2.6. Creatinina..... 93
4.2.7. Glicose..... 94
4.2.8. Bilirrubina..... 96
4.2.9. Colesterol..... 97
4.2.10. Triglicérides..... 99
4.2.11. Alanina aminotransferase (ALT)..... 101
4.2.12. Amilase..... 101
4.2.13. Aspartato transaminase (AST)..... 102
4.2.14. Creatina quinase (CK)..... 103
4.2.15. Desidrogenase lática (DHL)..... 104

4.2.16. Fosfatase Alcalina..... 105
4.2.17. Gama glutamil transferase (GGT)..... 106
4.2.18. Ferro Sérico..... 107
4.3 FREQÜÊNCIA CARDÍACA E RESPIRATÓRIA..... 108
5. SÍNTESE DE RESULTADOS E CONCLUSÕES..... 109
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS..... 111
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 112

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 – Boto vermelho (*Inia geoffrensis*)..... 02

Figura 02 – Área de estudo: Reserva de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá, Setor Mamirauá - (Fonte: GTA - RDS Mamirauá)..... 13

Figura 03 – Locais de captura dos botos no Sistema Mamirauá (RDSM): Boca do Mamirauá; 2 - Paraná do Apara (Fonte: GTA: Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá)..... 14

Figura 04 - Redes fazendo o cerco no Paraná do Apara..... 15

Figura 05 - Colheita de sangue na região ventral do pedúnculo caudal..... 16

Figura 06 -Local da contagem das hemácias na câmara de Neubauer modificada. 17

Figura 07 - Células da margem superior e esquerda devem ser incluídas durante a contagem na câmara de Neubauer modificada..... 17

Figura 08 – Local de contagem dos leucócitos na câmara de Neubauer modificada..... 18

Figura 09 – Local na câmara de Neubauer onde é feita a contagem das plaquetas. 19

Figura 10 – Aparelho Alcyon® do Laboratório de Análises Clínicas do HEMOAM..... 23

Figura 11 – Porcentagem de cada classe de animais incluídas neste estudo..... 24

Figura 12 – Média, erro padrão da média (EP) e desvio-padrão (DP) dos valores de CHCM de fêmeas e machos..... 27

Figura 13 – Média, erro padrão da média (EP) e desvio-padrão (DP) dos valores de VHS de adultos (Adt), juvenis (Juv) e filhotes (Calf)..... 34

.

Figura 14 – Média, erro padrão da média (EP) e desvio-padrão (DP) dos valores de leucócitos de adultos, juvenis e filhotes..... 35

Figura 15 – Média, erro padrão da média (EP) e desvio-padrão (DP) do número de leucócitos de filhotes machos (1), juvenis machos (2), adultos machos (3), filhotes fêmeas (4), juvenis fêmeas (5) e adultos fêmeas (6)..... 36

Figura 16 – Neutrófilo do sangue de boto vermelho(*Inia geoffrensis*) (Wright, 100X)..... 37

Figura 17 -Linfócito de boto vermelho (*Inia geoffrensis*) com núcleo ocupando quase todo o citoplasma (Wright, 100X)..... 38

Figura 18 - Média, erro padrão da média (EP) e desvio-padrão (DP) da porcentagem de linfócitos de adultos (Adt), juvenis (Juv) e filhotes (Calf)..... 39

Figura 19 - Média, erro padrão da média (EP) e desvio-padrão (DP) da porcentagem de linfócitos de filhotes machos (1), juvenis machos (2), adultos machos (3), filhotes fêmeas (4), juvenis fêmeas (5) e adultos fêmeas (6)..... 40

Figura 20 - Monócito de boto vermelho (*Inia geoffrensis*) com núcleo rosa brilhante em forma de feijão (Wright, 100X)..... 40

Figura 21 - Eosinófilo de *Inia geoffrensis* com núcleo bilobulado e densa granulação do citoplasma (Wright, 100X)..... 41

Figura 22 - Média, erro padrão da média (EP) e desvio-padrão (DP) da porcentagem de linfócitos de adultos (Adt), juvenis (Juv) e filhotes (Calf)..... 42

Figura 23 - Média, erro padrão da média (EP) e desvio-padrão (DP) da porcentagem de linfócitos de filhotes machos (1), juvenis machos (2), adultos machos (3), filhotes fêmeas (4), juvenis fêmeas (5) e adultos fêmeas (6)..... 43

Figura 24 - Média, erro padrão da média (EP) e desvio-padrão (DP) dos valores de fosfatase alcalina de fêmeas (F) e machos (M)..... 47

Figura 25 - Média, erro padrão da média (EP) e desvio-padrão (DP) dos níveis séricos de cálcio de filhotes (1), juvenis (2) e adultos (3)..... 54

Figura 26 - Média, erro padrão da média (EP) e desvio-padrão (DP) dos níveis séricos de cálcio de filhotes machos (1), juvenis machos (2), adultos machos (3), filhotes fêmeas (4), juvenis fêmeas (5) e adultos fêmeas (6)..... 55

Figura 27 - Média, erro padrão da média (EP) e desvio-padrão (DP) dos níveis séricos de CK de filhotes (1), juvenis (2) e adultos (3)..... 56

Figura 28 - Média, erro padrão da média (EP) e desvio-padrão (DP) da atividade enzimática de fosfatase alcalina de filhotes (1), juvenis (2) e adultos (3)..... 61

Figura 29 - Média, erro padrão da média (EP) e desvio-padrão (DP) da atividade de fosfatase alcalina de filhotes machos (1), juvenis machos (2), adultos machos (3), filhotes fêmeas (4), juvenis fêmeas (5) e adultos fêmeas (6)..... 62

Figura 30 - Média, erro padrão da média (EP) e desvio-padrão (DP) dos níveis séricos de uréia de filhotes (1), juvenis (2) e adultos (3)..... 69

Figura 31 – Correlação entre leucócitos e freqüência respiratória de 33 botos..... 73

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 – Comprimento mínimo e máximo das diferentes classes etárias e sexuais do boto vermelho..... 25

Tabela 02 - Valores hematológicos de todos os botos do estudo..... 26

Tabela 03 – Média, desvio-padrão, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico dos valores hematológicos de fêmeas e machos..... 28

Tabela 04 – Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) dos valores de hematócrito das classes etárias..... 29

Tabela 05 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) dos valores de hematócrito de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas..... 29

Tabela 06 – Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IC) da contagem total de hemácias das classes etárias..... 30

Tabela 07 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) da contagem total de hemácias de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas..... 30

Tabela 08 – Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) da concentração de hemoglobina de adultos e juvenis..... 31

Tabela 09 – Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) do VCM das classes etárias..... 31

Tabela 10 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) de VCM para filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas..... 31

Tabela 11 – Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) de CHCM das classes etárias..... 32

Tabela 12 – Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) do número de plaquetas das classes etárias..... 32

Tabela 13 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) do número de plaquetas de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas..... 33

Tabela 14 – Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) dos valores de VHS das classes etárias..... 33

Tabela 15 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança dos valores de VHS de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas..... 34

Tabela 16 – Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) da contagem total de leucócitos das classes etárias..... 35

Tabela 17 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) da contagem total de leucócitos de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas..... 36

Tabela 18 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) da porcentagem de neutrófilos das classes etárias..... 37

Tabela 19 - Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) da porcentagem..... 37

Tabela 20 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) da porcentagem de linfócitos das classes etárias..... 38

Tabela 21 - Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) da porcentagem de linfócitos de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas..... 39

Tabela 22 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) da porcentagem de linfócitos das classes etárias..... 41

Tabela 23 - Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) da porcentagem de monócitos de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas..... 41

Tabela 24 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) da porcentagem de eosinófilos das classes etárias..... 42

Tabela 25 - Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) da porcentagem de eosinófilos de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas..... 43

Tabela 26 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) dos parâmetros hematológicos de fêmeas prenhes e vazias..... 44

Tabela 27 – Níveis séricos dos elementos bioquímicos de todos os botos do estudo..... 45

Tabela 28 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) dos níveis séricos dos parâmetros bioquímicos de fêmeas e machos..... 46

Tabela 29 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) dos níveis séricos de albumina das classes etárias..... 47

Tabela 30 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) dos níveis séricos de albumina de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas..... 48

Tabela 31 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) da atividade enzimática de ALT das classes etárias..... 48

Tabela 32 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) da atividade de ALT de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas..... 49

Tabela 33 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) da atividade de amilase das classes etárias..... 49

Tabela 34 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas..... 50

Tabela 35 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) da atividade de AST das classes etárias..... 50

Tabela 36 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) da atividade de AST de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas..... 51

Tabela 37 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) dos níveis séricos de bilirrubina direta das classes etárias..... 51

Tabela 38 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) dos níveis séricos de bilirrubina direta de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas..... 51

Tabela 39 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) dos níveis séricos de bilirrubina indireta das classes etárias..... 52

Tabela 40 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) dos níveis séricos de bilirrubina indireta de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas..... 52

Tabela 41 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) dos níveis séricos de bilirrubina total das classes etárias..... 53

Tabela 42 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) dos níveis séricos de bilirrubina total de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas..... 53

Tabela 43 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) dos níveis séricos de cálcio das classes etárias..... 54

Tabela 44 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) dos níveis séricos de cálcio de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas..... 55

Tabela 45 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) da atividade de CK das classes etárias..... 56

Tabela 46 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança da atividade de CK de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas..... 57

Tabela 47 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) dos níveis séricos de colesterol das classes etárias..... 57

Tabela 48 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança dos níveis séricos de colesterol de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas..... 58

Tabela 49 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) dos níveis séricos de creatina das classes etárias..... 58

Tabela 50 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) dos níveis séricos de creatina de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas..... 59

Tabela 51 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) de DHL das classes etárias..... 59

Tabela 52 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas..... 60

Tabela 53 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) da atividade de fosfatase alcalina das classes etárias..... 60

Tabela 54 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) da atividade de fosfatase alcalina de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas..... 61

Tabela 55 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) dos níveis séricos de ferro das classes etárias..... 62

Tabela 56 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) dos níveis séricos de ferro de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas..... 63

Tabela 57 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) da atividade de GGT das classes etárias..... 63

Tabela 58 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) da atividade de GGT de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas..... 64

Tabela 59 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) dos níveis séricos de glicose das classes etárias..... 64

Tabela 60 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança dos níveis de glicose de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas..... 65

Tabela 61 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) dos níveis séricos de magnésio das classes etárias..... 65

Tabela 62 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) dos níveis séricos de magnésio de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas..... 66

Tabela 63 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) dos níveis séricos de proteínas totais das classes etárias..... 66

Tabela 64 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) dos níveis séricos de proteínas totais de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas..... 67

Tabela 65 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) dos níveis de triglicérides das classes etárias..... 67

Tabela 66 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) dos níveis de triglicérides de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas..... 68

Tabela 67 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) dos níveis séricos de uréia das classes etárias..... 68

Tabela 68 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) dos níveis séricos de uréia de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas..... 69

Tabela 69 - Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) de fêmeas prenhes e vazias..... 70

Tabela 70 – Média e desvio-padrão dos lotes 01 e 02..... 71

Tabela 71 – Freqüências cardíacas máximas e mínimas de filhotes, juvenis e adultos no intervalo de um minuto..... 72

Tabela 72 – Freqüências respiratórias máximas e mínimas de filhotes, juvenis e adultos no intervalo de um minuto..... 73

RESUMO

Os golfinhos de rio estão entre os cetáceos menos conhecidos e mais ameaçados do mundo. O boto vermelho (*Inia geoffrensis)* é endêmico e amplamente distribuído nas bacias dos rios Amazonas e Orinoco. Visando aumentar conhecimento sobre a biologia básica e fisiologia do mesmo, o presente trabalho reporta os parâmetros hematológicos e bioquímicos de 109 botos de vida livre da Reserva de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá. As colheitas foram realizadas durante o mês de novembro de 2004 e 2005. O sangue foi colhido do pedúnculo caudal da nadadeira dorsal, e ocasionalmente dos vasos das nadadeiras peitoral e caudal. Uma comparação entre amostras de soro congeladas foi realizada a fim de averiguar a viabilidade destas após o congelamento por 60 dias a –80°C. Um teste de correlação entre os parâmetros do sangue e a freqüência cardíaca e respiratória foi feito para avaliar o efeito do estresse sobre os parâmetros hematológicos. Poucas diferenças foram encontradas entre machos e fêmeas, com exceção da concentração hemoglobínica corpuscular média (CHCM) e da atividade sérica da fosfatase alcalina, ambas maiores nos machos. Dentre as diferenças observadas entre as classes etárias, os filhotes apresentaram valores mais elevados para quase todos os parâmetros. Animais jovens em fase de crescimento apresentaram caracteristicamente maiores níveis séricos de cálcio e atividade sérica de fosfatase alcalina, ambos associados ao desenvolvimento contínuo dos ossos. Os filhotes também apresentaram maior atividade sérica da creatina quinase (CK), maior porcentagem de linfócitos, e maior número de leucócitos. Este número significativamente mais elevado de leucócitos nos filhotes é um reflexo do sistema imunológico ainda em desenvolvimento. Apenas a velocidade de hemossedimentação (VHS), e a porcentagem de eosinófilos foi maior nos adultos. Fêmeas prenhes apresentaram caracteristicamente níveis séricos mais elevados de quatro elementos envolvidos no metabolismo energético: albumina, amilase, colesterol e triglicérides; e também de uréia, provavelmente como resultado de um maior consumo de proteínas para suprir as demandas energéticas durante a gestação. O congelamento do soro por 60 dias provocou alterações significativas em 13 dos 19 elementos bioquímicos analisados. As atividades séricas de aspartato transaminase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e fosfatase alcalina tiveram uma redução de 27%, 23% e 23%, respectivamente. Os níveis séricos de albumina, cálcio, colesterol, ferro, glicose, magnésio e uréia também apresentaram um decréscimo significativo (22%, 40%, 26%,47%, 40% e 48%, respectivamente). Já os níveis séricos de bilirrubina indireta, bilirrubina total e da atividade sérica da gama glutamil transferase (GGT) apresentaram-se maiores após congelamento das amostras por 60 dias. A correlação positiva encontrada entre o número de leucócitos e a freqüência respiratória foi influenciada pelo maior número destas células nos filhotes, bem como a freqüência respiratória naturalmente mais elevada nesta classe etária. Não é possível afirmar que animais aparentemente mais estressados (com freqüência respiratória maior) têm maior número de leucócitos circulantes.

ABSTRACT

The river dolphins are the less known and more threatened cetaceans of the world. The Amazon river dolphin (*Inia geoffrensis*) is endemic and widely distributed in the Orinoco and Amazon River Basins. Looking forward to improve the knowledge about its biology and physiology, the present study reports hematological and plasma constituents values from 109 wild Amazon river dolphins from Sustainable Development Reserve Mamirauá. The blood samples were done during November of 2004 and 2005. The blood was drawn from the ventral surface of caudal peduncle, and occasionally from the vessels of the caudal fluke and flippers. A comparison between stored samples was done to verify the viability of them after 60 days in a –80°C freezer. Correlation tests between the blood parameters and the cardiac and respiratory frequencies were done to evaluate the effects of stress in blood values. Few hematological and plasma chemical differences were found between males and females, with exception of mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) and alkaline phosphatase activity, both higher in males. Among age classes, the calves showed the highest values to almost all parameters. Younger, growing animals characteristically showed higher levels of calcium and alkaline phosphatase activity associated with the continued bone development. The calves also had higher creatine phosphokinase activity; higher lymphocyte counts and higher total leucocytes counts. This significant elevated number of leucocytes may be due to the still development immune system of immature animals. Only the erythrocyte sedimentation rate and the eosinophil percentage were higher in adults. Pregnant females showed characteristically higher values of four plasma constituents involved in energetic metabolism: Albumin, amylase, cholesterol, triglyceride; and urea either, probably as a result of higher food consumption in order to supply the energetic requirements during pregnancy. The freezing storage of the serum for 60 days markedly changed 13 of 19 serum plasma constituents. The aspartate aminotrasferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) and alkaline phosphatase activities decreased about 27%, 23% e 23%, respectively. The albumin, calcium, cholesterol, iron, glucose, magnesium and urea levels also decreased after freezing (22%, 40%, 26%, 47%, 40% e 48%, respectively). Otherwise, the gamma glutamyl transpeptidase (GGT) activity, and the free and total bilirrubin levels, showed small but significant increase. The positive correlation found between the leukocyte count and the respiratory frequency was induced by the highest number of these cells in immature animals, as well as the naturally elevated respiratory frequency in this age class. It is not possible to affirm that apparently more stressed animals (higher respiratory frequency) have higher number of circulating leucocytes.

1. INTRODUÇÃO

Os mamíferos aquáticos desenvolveram muitos ajustes fisiológicos importantes para se adaptar ao meio em que vivem, e o conhecimento destas adaptações é de fundamental importância para o estudo desse grupo. Inúmeras variações anatômicas e fisiológicas refletem mudanças na termorregulação, função respiratória, circulação, fisiologia renal e mecanismos neurais dos mamíferos (Ridgway, 1972).

Segundo Ridgway (1972), a maioria dos mamíferos marinhos possui uma freqüência respiratória mais baixa do que a de seus homólogos terrestres. Para compensar esta menor freqüência, a inspiração é mais profunda com a retirada de mais oxigênio do ar inspirado. Outras adaptações fisiológicas são a capacidade de realizar bradicardia e vasoconstricção periférica durante o mergulho, e a manutenção da pressão arterial nos vasos centrais (apesar da diminuição da freqüência cardíaca e bombeamento). Durante a apnéia, o fluxo sangüíneo aumenta no cérebro e diminui nos músculos (Irving *apud* Ridgway, 1972). As reservas de oxigênio no sangue e músculos de mamíferos marinhos não são suficientes para manter mergulhos longos. Entretanto, quando comparada a animais terrestres, a maioria das espécies possui capacidade de transporte e armazenamento de oxigênio aumentada (Ridgway, 1972).

Os ajustes fisiológicos variam de acordo com as pressões ecológicas específicas sobre cada espécie. Estas adaptações devem ser consideradas quando se trabalha com espécies de água doce, pois desenvolveram mecanismos de adaptação diferentes das espécies que vivem no mar.

Os golfinhos de rio estão entre os cetáceos menos estudados e mais ameaçados do mundo. Embora muitos delfinídeos marinhos sejam encontrados rio acima a uma grande distância do mar, os golfinhos essencialmente fluviais são distintos dos marinhos morfologica e filogeneticamente. De Monte & Pilleri (1990) observaram que em Platanistoidea (assim como no homem) a maior parte do colesterol é transferido ao sangue pelas β- lipoproteínas (colesterol LDL), enquanto que em cetáceos marinhos, a transferência é feita na sua maior parte pelas α-lipoproteínas (colesterol HDL). Também observaram que o gênero *Inia* possui uma concentração plasmática de ácido úrico mais elevada que os odontocetos marinhos.

O fato dos golfinhos de rio não formarem um grupo monofilético é consistente com sua distribuição altamente descontínua: O boto vermelho (*Inia geoffrensis*) endêmico da Bacia do Rio Amazonas; franciscana (*Pontoporia blainvillei*) encontrado na costa da América do Sul; o golfinho do Rio Yang-Tsé (*Lipotes vexillifer*) e o golfinho do Rio Ganges (*Platanista gangetica*) habitam rios em lados opostos na Ásia continental (Hamilton *et al.,* 2000).

Essas espécies possuem adaptações que facilitam a captura de peixes: um longo rostro, nadadeiras peitorais largas que permitem movimentos precisos e vértebras cervicais sem fusionamento que permite um maior movimento da cabeça (Martin, 1990).

O boto vermelho (*Inia geoffrensis*) possui pêlos curtos no topo do longo rostro que persistem ao longo da vida, ao contrário dos outros Platanistoideos que os perdem nas primeiras semanas de vida. Além disso, diferencia-se por ter dois tipos de dentes (heterodontia), e pela forma pouco saliente de sua nadadeira dorsal. Na região da Amazônia central, os machos atingem a maturidade sexual com um comprimento de aproximadamente 198 cm, e as fêmeas de 160 a 175 cm. Os nascimentos coincidem com o pico da enchente e cessam de maio a julho (Best & Silva, 1993).

Figura 01 – Boto vermelho (*Inia geoffrensis*).

Inia geoffrensis é endêmico e amplamente distribuído nas bacias dos rios Amazonas e Orinoco onde é encontrado em todos os tipos de habitat. Seus movimentos estacionais estão relacionados às migrações dos peixes e o ciclo anual de enchente das águas (Martin & da Silva, 2004). As causas de mortalidade de botos incluem acidentes em redes de arrasto, assim como em redes fixas ou à deriva. A construção de usinas hidrelétricas altera

drasticamente a fauna de peixes, e quebra a continuidade da população, isolando perigosamente o pool gênico em reservatórios individuais. O mercúrio, usado no amalgamento do ouro, tem sido encontrado em altas concentrações em peixes que fazem parte da dieta do boto (Best & Silva, 1993). Atualmente, um grande número de botos vem sendo capturado para a pesca da piracatinga (*Calophysus macropterus*). Apesar de sua ampla distribuição e ser bem conhecido pela população que vive na Amazônia, o boto continua pouco estudado. A espécie ocorre em altas densidades na maior parte da sua distribuição, normalmente é tolerante a presença de barcos e é relativamente fácil de ser observada (Martin e da Silva, 2004).

Cerca de 13.000 botos vermelhos habitam a área da Reserva de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá em uma área de 11.240 km^2, o que representa aproximadamente 11 a 18% da área de várzea no Brasil. Deste total, aproximadamente 260 botos, dos quais a metade é considerada animais residentes, ocorrem dentro ou próximo dos 225 km^2 do sistema de lagos do Setor Mamirauá (Martin & da Silva, 2004).

1.1 HEMATOLOGIA

A hematologia é uma das ferramentas mais úteis para a avaliação clínica de doenças em mamíferos, porém informações acerca dos valores sangüíneos normais de cetáceos são raras (Mac Neill, 1975), pois a obtenção de amostras sangüíneas de animais selvagens e sadios em boas condições de análise é muito difícil.

Para a interpretação dos resultados obtidos a partir dos parâmetros sangüíneos, faz-se necessário determinar, em primeiro lugar, quais as variações consideradas como normais para cada espécie, para então comparar estes resultados com os de animais doentes e, assim, diagnosticar as doenças (Colares *et al.*, 1992). O conjunto de valores de referência é geralmente descrito em termos de "limites de referência", que excluem 2,5% dos valores em cada extremo de faixa observada, isto é, o intervalo de confiança representa os 95% centrais dos valores observados. Esse intervalo de confiança, proveniente dos indivíduos da amostra, será representativo do intervalo de confiança da população da qual ele é oriundo (Bain, 2006).

A avaliação do estado de saúde de mamíferos marinhos selvagens, particularmente cetáceos, pode ser extremamente difícil. Amostras de sangue são usadas freqüentemente para monitorar a saúde de populações selvagens (e.g., Williams & Pulley, 1983; Gales,

1992), mas o uso desta técnica é complicado do ponto de vista prático em obter amostras com boas condições de análise. A maioria dos valores hematológicos de cetáceos selvagens é oriunda de animais encalhados ou amostras de indivíduos em cativeiro (Gales, 1992). O uso de valores hematológicos de animais de cativeiro como parâmetros para efeito de comparação com indivíduos selvagens não deve ser considerado (Koopman *et al.*, 1999).

Todos os vertebrados possuem um sistema circulatório fechado no qual o sangue circula sob pressão. O sangue é composto de hemácias cuja função principal é o transporte de hemoglobina, leucócitos que estão envolvidos no mecanismo de defesa do organismo, e células hemostáticas suspensas no plasma contendo fibrinogênio (Hawkey, 1975). A única exceção é o peixe do gelo ("ice fish" - família Chaenithidae) nos quais as hemácias (eritrócitos) estão ausentes (Lehmann & Huntsman *apud* Hawkey, 1975).

As células vermelhas dos peixes, anfíbios, répteis e aves são ovais e contém um núcleo centralizado esférico ou oval. Entre os mamíferos, apenas os camelos e seus parentes próximos possuem células vermelhas ovais; em todos os outros grupos, as hemácias têm a forma de um disco bicôncavo e não apresentam núcleo, incluindo os camelos. A perda do núcleo está associada ao aumento da eficiência funcional já que existe um espaço extra para as moléculas de hemoglobina, além de uma redução do consumo de oxigênio pelas células (Hawkey, 1975).

Em condições normais nos mamíferos, os eritrócitos respondem por aproximadamente 40% de todo o volume sangüíneo. Este índice, chamado de hematócrito (Hct), é mais ou menos constante para todas as espécies, independentemente do tamanho do eritrócito (Garcia-Navarro & Pachaly, 1994). Em pinípedes (focas, leões marinhos e lobos marinhos) e cetáceos, onde ocorre uma exposição periódica à anóxia durante o mergulho, o hematócrito é mais alto e as hemácias são relativamente grandes quando comparado a outros grupos de mamíferos. O cálculo de valores absolutos das hemácias desses animais indica um aumento da espessura das mesmas. Com isso, o nível de difusão para dentro e para fora da célula está reduzido, promovendo uma lenta liberação de oxigênio que pode ser vantajosa durante os períodos de submersão. Outras adaptações fisiológicas para o mergulho encontradas nestes animais são um aumento do volume sangüíneo, sensibilidade para acumular dióxido de carbono diminuída, bradicardia e vasoconstricção periférica durante o mergulho (Andersen, 1966; Ridgway, 1972). Focídeos, em particular, têm um aumento no volume sangüíneo em relação à massa corporal comparando-se aos mamíferos

terrestres (Hawkey, 1975). A habilidade dos focídeos de alterar dramaticamente o Hct durante a apnéia, possivelmente se dá por meio da contração esplênica, sugerindo que o Hct desses animais é muito dinâmico sob condições variáveis (Hawkey, 1975).

O método utilizado para determinação do hematócrito pode ser crítico para se obter valores com acurácia. A microcentrifugação tem sido o método tradicionalmente usado em focas, porém o uso de contadores eletrônicos (Coulter counter) tem sido mais freqüente nos últimos anos (Hawkey, 1975). Em um estudo feito com focídeos do Alaska e Califórnia, os valores obtidos com o Coulter counter apresentaram-se de 4% a 15% maiores do que aqueles obtidos pela microcentrifugação (Castellini *et al.*, 1996).

Propriedades hematológicas estão relacionadas com o padrão e a profundidade do mergulho de alguns mamíferos marinhos (Koopman *et al.*, 1995). Mc Connel & Vaughan (1983) observaram que em cativeiro, focas comuns (*Phoca vitulina*) apresentaram valores mais bai xos de glóbulos vermelhos e hemoglobina, provavelmente pela pouca atividade física em função do espaço limitado e pouca profundidade da água.

A produção de células vermelhas ou eritropoese ocorre na medula óssea vermelha (hematopoiética) (Kerr, 2003). Algumas espécies de animais, particularmente alguns cervos, roedores e cetáceos, possuem uma porcentagem maior de reticulócitos e hemácias policromáticas no sangue, sendo que a presença de uma pequena proporção de hemácias nucleadas não tem uma significância patológica (Hawkey, 1975).

Os leucócitos dos mamíferos marinhos são classificados da mesma maneira que os leucócitos de mamíferos terrestres como polimorfonucleares ou mononucleares. Os leucócitos polimorfonucleares também são conhecidos como granulócitos em função de seus grânulos citoplasmáticos. Estes grânulos representam os lisossomos que contém enzimas hidrolíticas e outros componentes antibacterianos. Os granulócitos dos mamíferos marinhos incluem neutrófilos, eosinófilos e basófilos (Bossart *et al.*, 2001). Os agranulócitos mononucleares incluem os linfócitos e monócitos. Os granulócitos e os monócitos desenvolvem-se quase exclusivamente na medula óssea, já os linfócitos desenvolvem-se principalmente nos linfonodos e no baço (e timo nos animais jovens) (Kerr, 2003).

Os linfócitos são as células específicas da resposta imune específica. Os linfócitos B produzem anticorpos (imunidade humoral), enquanto os linfócitos T são responsáveis pela imunidade celular por meio da formação e liberação de moléculas conhecidas

coletivamente como citocinas. Ao contrário dos granulócitos e monócitos, que se movem unidirecionalmente da medula óssea para os tecidos na corrente sangüínea, os linfócitos recirculam dos linfonodos para o sangue e vice-versa. Os linfócitos recirculantes são células de vida longa e podem passar meses, até mesmo anos, no corpo dos animais (Rebar *et al*., 2005).

O número de células brancas no sangue circulante pode variar em função da atividade muscular, excitação, apreensão e estresse. Cães em repouso apresentam um valor mais baixo de leucócitos circulantes do que cães em atividade física. Outra forma de leucocitose, resultante de estresse, ocorre em cães hospitalizados ou que sofreram agressão (Schalm *et al.*, 1975). Focas submetidas ao estresse demonstraram mudanças mediadas pela adrenal em parâmetros hematológicos como hematócrito e contagem diferencial e total dos leucócitos (Geraci & Smith *apud* St. Aubin *et al.*, 1979).

A contagem diferencial dos leucócitos, também chamada fórmula leucocitária, tem por finalidade estabelecer o valor percentual de cada tipo de leucócito no sangue circulante, para depois, conhecendo-se o total de leucócitos circulantes, conhecer o total de cada tipo de leucócito (Garcia-Navarro & Pachaly, 1994). Os neutrófilos estão comumente aumentados nos casos de infecção bacteriana e também participam nos processos inflamatórios. A eosinofilia é provavelmente a reação mais comum de eventos alérgicos observado na clínica de pequenos animais. O aumento do número de eosinófilos também ocorre em alguns casos de parasitismo devido a sensibilidade à uma proteína estranha do parasita, como parte de um fenômeno imunológico. Portanto, é provável observarmos eosinofilia quando os parasitas estão migrando por entre os tecidos, mas ela não é esperada quando os parasitas estão, por exemplo, em vida livre no intestino (Kerr, 2003). Os basófilos raramente ocorrem, e tendem a aparecer junto com uma eosinofilia. A linfopenia persistente, ou queda do número de linfócitos, que ocorre em doenças crônicas, é também um sinal da ação direta do agente da doença sobre o tecido linfocítico. O número de monócitos pode estar aumentado tanto em doenças crônicas como agudas no cão (Schalm *et al*., 1975).

Dentre os leucócitos de todos os animais vertebrados, os linfócitos e monócitos com sua morfologia típica podem ser claramente identificados, porém as células brancas polimorfonucleares de aves, répteis, peixes e anfíbios variam consideravelmente com relação às características morfológicas e de coloração.

A forma, o tamanho, a concentração e as características de coloração dos grânulos dos eosinófilos variam entre os mamíferos. Em algumas espécies como o macaco-da-noite (*Aotus trivirgatus*) e o golfinho nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*), por exemplo, ocorre uma alta eosinofilia mesmo na ausência de infestação parasitária ou processos alérgicos (Hawkey, 1975).

As plaquetas são fragmentos citoplasmáticos dos megacariócitos e estão envolvidas na coagulação sangüínea (Garcia-Navarro & Pachaly, 1994). Existe uma variação considerável com relação ao número de plaquetas no sangue circulante entre as espécies de mamíferos. Valores extremos são observados em golfinhos e alguns eqüinos onde a contagem pode estar abaixo de 1 x $10^5/mm^3$ (Hawkey, 1975). Os cetáceos não possuem o fator XII de coagulação. Tem sido sugerido que a ausência deste fator poderia proteger estes mamíferos mergulhadores da coagulação intravascular difusa que é a causa principal dos casos severos da doença de descompressão no homem, possivelmente desencadeada pela ativação do fator XII por acidose (Hawkey, 1975).

Apesar de o pH sangüíneo de cetáceos estar dentro do intervalo normal para mamíferos, um decréscimo significativo ocorre durante o mergulho (Hawkey, 1975). Em golfinhos nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*) o pH normal do sangue é em torno de 7.35. Entretanto, durante uma submersão prolongada o sangue pode tornar-se mais ácido em função do acúmulo de dióxido de carbono e a liberação de ácido lático pelo músculo (Ridgway, 1972).

Os índices hematimétricos: volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM), são obtidos a partir de três medidas básicas envolvendo a concentração de hemoglobina, o hematócrito (Hct) e o número de eritrócitos. Segundo Garcia-Navarro & Pachaly (1994), VCM indica o volume médio dos eritrócitos expresso em micracúbicos. Valores dentro dos limites normais da espécie indicam normocitose. Quando o VCM está diminuído, como nas anemias ferroprivas, ocorre microcitose. A HCM indica a média de hemoglobina por eritrócito, e o CHCM é a avaliação da quantidade de hemoglobina em 100ml de hemácias e permite a observação do grau de saturação de hemoglobina no eritrócito. A CHCM geralmente acompanha o VCM. Quando ocorre microcitose por falta de Hb, os eritrócitos também são hipocrômicos, tendo a CHCM diminuída (Garcia-Navarro & Pachaly, 1994).

Koopman *et al.* (1995) observaram que os valores hematológicos mostraram-se similares para quatro grupos reprodutivos de golfinhos (*Phocoena phocoena*): machos imaturos, fêmeas imaturas, machos maduros e fêmeas maduras. Diferenças significativas ocorreram apenas em cinco variáveis: contagem de hemácias, hematócrito, volume corpuscular médio (MCV), hemoglobina corpuscular média (MCH) e a contagem de monócitos. Não houve diferença para a concentração de hemoglobina, Hct, contagem de hemácias ou glóbulos brancos entre colheitas feitas de 1994 a 1997. Foi notado que a concentração de hemoglobina era maior em fêmeas imaturas e machos maduros do que em machos imaturos. Também foram observados valores bem superiores para MCH e MCV em fêmeas maduras quando comparado a machos imaturos ou maduros.

Em um estudo feito por Colares & Best (1990) os valores hematológicos encontrados para lontras da Amazônia (*Lutra longicaudis*) foram similares àqueles encontrados para lontras marinhas, e estão dentro do intervalo encontrado para várias espécies de cetáceos marinhos (Mac Neill, 1975). Entretanto, diferem daqueles reportados para uma espécie de cetáceo de água doce, *Inia geoffrensis* (Ridgway *et al*., 1970), onde um dos espécimes de *Inia geoffrensis* apresentou maior número de leucócitos. Isto se deve provavelmente, ao decréscimo de leucócitos com o avanço da idade, como foi reportado para baleias orcas (*Orcinus orca*) em cativeiro por Cornell (1983). Já estudos com baleias belugas (*Delphinapterus leucas*) em cativeiro nos EUA, não revelaram diferenças no número total de leucócitos entre jovens e adultos, ou entre machos e fêmeas (Cornell *et al*.,1988). Valores de células brancas em filhotes de foca comum (*Phoca vitulina*) de cativeiro foram consideravelmente maiores do que as de vida livre (Mc Connell & Vaughan, 1983).

1.2 BIOQUÍMICA SANGÜÍNEA

A bioquímica sangüínea comparativa é uma importante ferramenta para avaliar a saúde dos animais. Medidas incluindo bioquímica e eletrólitos do soro, níveis de hormônio e títulos de anticorpos podem ser usadas para verificar condições fisiológicas, patológicas e reprodutivas (Koopman *et al*., 1995).

Um estudo feito por St. Aubin *et al.* (1979) para avaliar o efeito do estresse de captura sobre as enzimas plasmáticas de focas da Groelândia (*Phoca groenlandica*), demonstrou que das seis enzimas pesquisadas - creatina quinase (CK), aspartato

transaminase (AST), aldolase (ALD), alanina aminotransferase (ALT), gama glutamil transferase (GGT) e leucina aminopeptidase (LAP), apenas a CK teve um aumento significativo de sua atividade. O trauma ou compressão abdominal a que os animais foram submetidos não atingiu o fígado ou foi insuficiente para gerar alterações, pois não houve um aumento significativo da atividade enzimática de ALT, GGT e LAP. A atividade de CK em focas é recomendável como um indicador sensível de estresse provocado por captura e manejo.

A análise bioquímica do sangue de 31 golfinhos (*Phocoena phocoena*) de vida livre da Baía Fundy, Canadá, indicou que os níveis de sódio, fósforo, cálcio, cloro, magnésio, proteínas totais, albumina, globulina, uréia, colesterol, osmolaridade sérica e alanina aminotransferase estavam dentro do intervalo reportado para golfinhos de cativeiro e outros odontocetos. Já os níveis de glicose, potássio, creatina quinase, aspartato aminotransferase, hemoglobina, T_4, bilirrubina e fosfatase alcalina eram geralmente maiores do que o encontrado para outros odontocetos mantido em cativeiro. Os níveis de cortisol e creatinina foram significativamente maiores para os golfinhos submetidos a um manejo mais longo. A concentração média de bilirrubina foi a maior encontrada em relação a outros cetáceos, e pode ser um reflexo de uma lesão hepática causada por parasitas presentes praticamente em todos os golfinhos selvagens (Koopman *et al*.,1995).

A concentração de vários componentes sorológicos de amostras frescas de sangue de baleias fin (*Balaenoptera physalus*), capturadas na Islândia durante o período de verão entre 1981 a 1989, foi medida por Kjelf (2001). A concentração média de uréia foi similar a de odontocetos, porém cinco vezes maior do que a de mamíferos terrestres domesticados.

Mc Connel & Vaughan (1983) notaram poucas mudanças sangüíneas em focas comuns (*Phoca vitulina*) relacionado com a idade, apesar dos níveis de bilirrubina serem maiores em filhotes. Os autores sugerem que isto se deve ao fato de o fígado não estar totalmente funcional após alguns dias do nascimento, e pela rápida desagregação e aumento da Hb fetal. A fosfatase alcalina também mostrou níveis mais elevados em recém-nascidos, provavelmente como resultado de um rápido crescimento ósseo nos primeiros meses de vida.

O estresse nutricional é um estado fisiológico e/ou comportamental negativo resultante de uma disposição alimentar qualitativa ou quantitativamente insuficiente, e pode ser detectado em mamíferos marinhos por meio de testes hematológicos e bioquímicos.

Níveis altos de uréia nitrogenada indicam alto grau de inanição, já que as proteínas só começam a ser utilizadas como fonte de energia quando não existem mais reservas de glicose e gordura no corpo do animal (Trites & Donnelly, 2003).

Medway *et al*. (1982) observaram em peixes-bois marinhos (*Trichechus manatus*) selvagens, que os valores de proteínas totais e da proporção albumina/globulina estavam maiores do que o encontrado na literatura em espécimes cativos. Esta baixa proporção pode indicar uma mudança fisiológica em decorrência da sedentariedade ou má nutrição desses animais de cativeiro.

O ferro, cobre e cobalto são os principais minerais requeridos para a produção de glóbulos vermelhos (Schalm *et al.*, 1975). Entre peixes-boi da Amazônia (*Trichechus inunguis*) cativos e selvagens, os níveis de cobre e sódio foram similares. No entanto, valores de zinco, magnésio, ferro, potássio, e cálcio nos animais selvagens foram significativamente maiores. Os resultados sugerem deficiência na dieta dos animais em cativeiro que requerem uma suplementação dos cinco últimos minerais citados. Valores reduzidos do hematócrito e hemoglobina refletem um longo período de privação de ferro. Os níveis de zinco, magnésio, ferro e cálcio também foram significativamente diferentes entre machos e fêmeas, o que pode ser um indicativo de uma possível diferença natural entre os sexos, e necessita de estudos adicionais (Rosas *et al*.,1999).

Ao contrário, Medway *et al.* (1982), analisando o sangue de 10 peixes-bois marinhos (*Trichechus manatus*) saudáveis mantidos em cativeiro, não detectaram nenhuma diferença bioquímica em relação à idade ou sexo. Os valores dos constituintes químicos do sangue (glicose, creatinina, uréia nitrogenada, ferro, albumina, transferrina, globulina e proteínas totais) estavam dentro dos parâmetros encontrados para a maioria das espécies domésticas. O mesmo ocorreu para a atividade sérica das enzimas (aspartato transaminase, alanina transaminase, fosfatase alcalina e creatina quinase) e para a maioria dos eletrólitos (Na, K, Cl, Ca, PO_4 e CO_2).

Não foram encontradas diferenças dos níveis plasmáticos dos elementos bioquímicos relacionadas ao sexo em um estudo feito ao longo de seis anos com baleias belugas (*Delphinapterus leucas*) em cativeiro. Porém, houve uma diferença significativa dos níveis de colesterol e triglicerídeos entre adultos e jovens, sendo os valores mais elevados dos animais mais velhos (Cornell *et al*., 1988).

Nos trabalhos de campo na Amazônia, existe uma dificuldade muito grande de preservar ou analisar material biológico perecível pelo fato de que muitas vezes não há energia elétrica estável para manutenção e uso dos equipamentos ou uma estrutura física ideal. Isto reforça a necessidade de congelamento de amostras para análises futuras. Um estudo feito por Mc Connel & Vaughan (1983) verificou que o congelamento por oito semanas do soro e plasma de focas comuns (*Phoca vitulina)* não alterou significativamente os valores sangüíneos, apesar de os valores de fosfatase alcalina e ALT estarem consideravelmente mais baixas nas amostras congeladas.

Hunter & Madin (1978) analisaram 14 componentes sangüíneos do soro de amostras congeladas e frescas do lobo marinho do Norte (*Callorhinus ursinus*). Notaram uma mudança significante em todos os componentes exceto proteínas totais, globulinas, fósforo e creatinina. Ocorreram reduções nos níveis enzimáticos do soro como havia sido previsto. Os valores de colesterol e bilirrubina aumentaram após o armazenamento de 127 e 110 dias, respectivamente.

Vários autores têm demonstrado que as propriedades sangüíneas de mamíferos marinhos são altamente espécie-específicas e variam de acordo com o habitat. Isto enfatiza a necessidade de se coletar dados de animais selvagens que sirvam de base para auxiliar o monitoramento do estado de saúde de uma população selvagem ou de animais em reabilitação (Koopman *et al.*, 1995).

A obtenção de amostras sangüíneas de mamíferos aquáticos selvagens em boas condições de análise é muito difícil. Alguns estudos têm sido feitos com sangue de animais encalhados ou em cativeiro, provavelmente refletindo parâmetros sangüíneos diferentes daqueles de vida livre. Além disso, para que limites de referência sejam úteis na avaliação dos resultados hematológicos, deve-se levar em conta se os resultados do exame são influenciados pela idade ou pelo sexo; e quando necessário, devem ser derivados limites separados (Bain, 2006).

O local da colheita e outras variáveis técnicas na obtenção da amostra de sangue afetam os resultados dos exames hematológicos (Bain, 2006). Por esse motivo, a mesma metodologia deve ser empregada em toda amostra para um correto estabelecimento do intervalo de confiança da população.

Os únicos estudos hematológicos com *Inia geoffrensis* foram realizados com indivíduos em cativeiro (Ridgway *et al.*, 1970), porém os efeitos na saúde dos animais em

longo prazo geralmente não são passíveis de mensuração, e, além disso, a dieta recebida por animais de cativeiro não é igual àquela encontrada em seu ambiente natural. Estes fatores provavelmente fazem com que animais de vida livre e de cativeiro tenham valores hematológicos distintos.

Estudos interdisciplinares de longa duração promovem oportunidades de monitorar a saúde, respostas imunológicas, e medir exposições a contaminantes dos indivíduos, e relacionar os achados às tendências dos níveis populacionais, todas em um contexto sobre o histórico dos animais, distribuição, abundância, dinâmica populacional e demografia (O'Shea *et al.*, 1999). A determinação dos parâmetros hematológicos de uma população selvagem que sofre poucas interferências antrópicas, e apresenta um estado de saúde estável, pode ser usada como uma importante ferramenta para avaliação de possíveis alterações do meio ambiente.

O conhecimento sobre a biologia básica e fisiologia do boto vermelho (*Inia geoffrensis*) é de fundamental importância para que medidas conscienciosas sejam tomadas no que diz respeito à sua conservação e manejo no ecossistema amazônico.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 GERAL

O presente estudo se propõe a estabelecer parâmetros hematológicos e bioquímicos que sirvam de referência para o boto vermelho (*Inia geoffrensis*) de vida livre dentro da faixa de normalidade para espécie, evidenciando as diferenças entre os sexos, classes etárias e fêmeas prenhes e vazias.

1.3.2 ESPECÍFICOS

- Verificar se existem diferenças hematológicas e bioquímicas do soro entre machos e fêmeas;

- Verificar se existem diferenças hematológicas e bioquímicas do soro entre as classes etárias (filhote, juvenil e adulto);

- Verificar se existem diferenças hematológicas e bioquímicas do soro entre fêmeas prenhes e vazias;

- Observar a variação dos parâmetros hematológicos de acordo com a variação da freqüência cardíaca e respiratória;

- Verificar a variação dos níveis séricos dos componentes bioquímicos em amostras estocadas em freezer a -80ºC analisadas em intervalos de 30 e 60 dias.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 ÁREA DE ESTUDO

Figura 02 – Área de estudo: Reserva de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá, Setor Mamirauá - (Fonte: GTA - RDS Mamirauá).

A área de estudo está situada a 500 km a oeste de Manaus, aproximadamente 2.500 km de extensão de rio até a desembocadura do Rio Amazonas (da Silva & Martin, 2000). A Reserva de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá possui uma área de 11.000 km^2 e fica entre os Rios Japurá e Solimões. É uma área de várzea e a variação do nível da água é de 10 a 12 metros (Ayres, 1994).

As coletas de sangue foram feitas durante a captura anual de botos, no âmbito do Projeto Boto (INPA/RDSM, PPI – 1-3920) no Setor Mamirauá da Reserva de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá (RDSM).

2.2 CAPTURA DOS BOTOS

Os botos foram capturados em dois locais diferentes dentro do Sistema Mamirauá (Figura 03) e o tempo de permanência em cada local foi determinado em função do número de animais capturados em cada um e do nível da água. A captura foi feita durante o mês de novembro de 2004 e 2005, período em que o nível do rio está baixo e os canais estreitos. Foi usada uma série de redes (com linha de 42 a 78 mm, malhas entre 8 e 10 cm, de 150 m de comprimento e entre 9 e 12 m de altura). A área isolada foi subdividida com várias redes para cercar os animais (Figura 04).

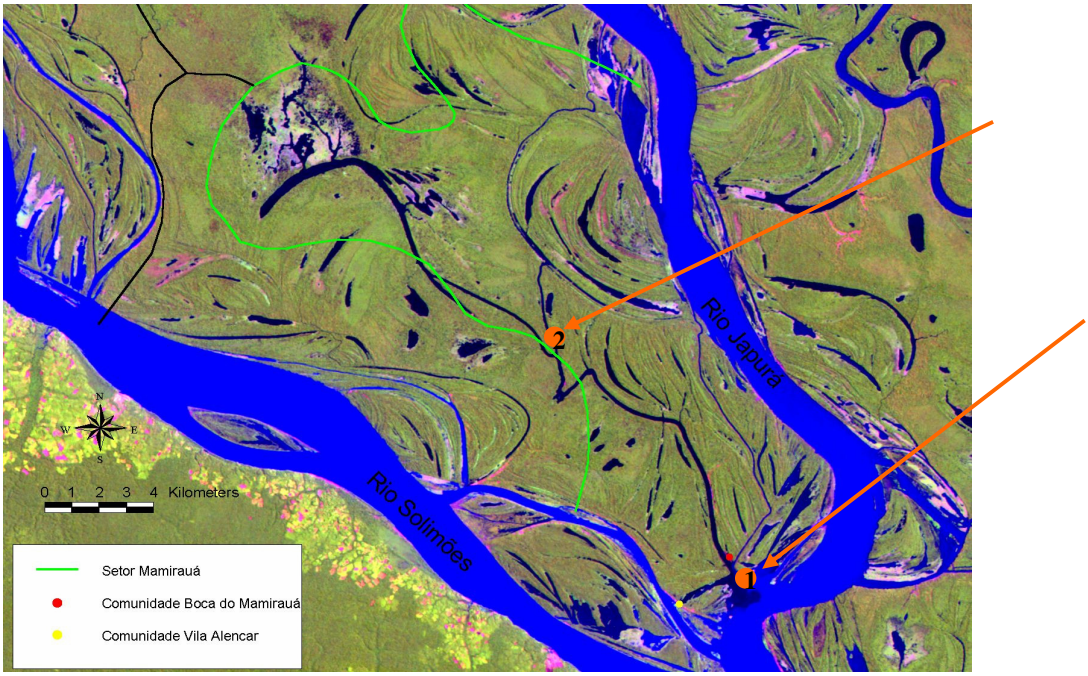

Figura 03 - Locais de captura dos botos no Sistema Mamirauá (RDSM): 1- Boca do Mamirauá ; 2 - Paraná do Apara (Fonte: GTA: Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá).

Apenas um boto foi manuseado por vez, com exceção de mães com filhotes que foram mantidos sempre juntos. Quando fora d'água, todos os botos foram monitorados quanto à freqüência respiratória e outros sinais vitais. Sua pele e olhos foram molhados várias vezes para prevenir a dessecação ou superaquecimento. Todos foram pesados,

medidos e marcados com nitrogênio líquido. Amostras biológicas diversas foram coletadas sempre que possível para outros estudos desenvolvidos no Projeto Boto (da Silva & Martin, 2000).

Figura 04 – Redes fazendo o cerco no Paraná do Apara

2.3 CLASSES ETÁRIAS

A divisão entre as classes etárias foi com base na classificação de Best & da Silva (1984). Além do comprimento total, outras características tais como coloração externa, presença de cicatrizes, comportamento e robustez dos animais foram observados para a determinação da classe etária.

Quase todas as fêmeas adultas foram submetidas a exame ultrassonográfico abdominal constatando-se a presença ou ausência de fetos.

2.4 ANÁLISES HEMATOLÓGICAS

2.4.1 COLHEITA E ARMAZENAMENTO DO SANGUE

Para a colheita do sangue foram utilizados scalps 19 G e seringas de 5, 10 e 20 ml. O sangue foi colhido preferencialmente da veia caudal que drena a parte ventral do pedúnculo caudal (Figura 05), e ocasionalmente dos vasos sangüíneos da nadadeira dorsal e peitoral. O volume sangüíneo coletado de cada indivíduo variou entre 4 e 80 ml em função da idade do animal, do estado de estresse e da necessidade do volume de amostras. O

sangue colhido foi acondicionado em tubos Vacutainer sem aditivos e com EDTA (ácido etilenodiamino tetracético) potássico. Os tubos foram armazenados em refrigerador por um período máximo de 8 horas antes das análises.

Figura 05 - Colheita de sangue na região ventral do pedúnculo caudal.

Todas as amostras foram armazenadas em refrigerador a uma temperatura de 5°C logo após a colheita, onde permaneceram por um período máximo de 8 horas antes das análises. Os procedimentos laboratoriais foram realizados sempre pela mesma pessoa visando minimizar variações metodológicas. O soro foi armazenado em freezer a –20ºC durante o período da colheita (25 dias em 2004 e 15 dias em 2005). O soro congelado foi transportado de avião de Tefé para Manaus em caixas de isopor com gelo, e as amostras foram armazenadas por 30 dias em freezer –80°C no Laboratório de Mamíferos Aquáticos - INPA antes da primeira análise.

2.4.2 HEMATÓCRITO

Foi utilizada a técnica do microhematócrito, onde uma pequena amostra de sangue não heparinizado é sugado por capilaridade para dentro de um tubo de 75 mm. Estes tubos foram centrifugados durante 10 min a uma velocidade de 10.000 g. A leitura do tubo foi feita com o auxílio de uma tabela padronizada.

2.4.3 CONTAGEM DE HEMÁCIAS

Na contagem de hemácias foi utilizada a técnica adaptada de Delaney & Garratty (1969) conforme descrito abaixo:

Fez-se uma diluição de 1/200 acondicionando-se 20 µl de sangue com EDTA em 4ml do líquido diluidor (Líquido de Hayem). Homogenizou-se a mistura e a câmara de Neubauer modificada foi preenchida por atração capilar. Esperou-se 3 minutos para a sedimentação das hemácias no fundo da câmara. Utilizando-se a objetiva de 40X do microscópio, contaram-se as células dos cinco menores quadrantes da câmara que estão localizados em sua parte central (Figura 06). Foram incluídas as células que tocam as partes superior e esquerda dos quadrados (Figura 07). O número obtido foi multiplicado por 10050 já que o volume total foi de 40020 µl . 1/10000 da câmara de Neubauer modificada foi contada (1/5 área contada X 1/10 profundidade X 1/200 diluição = 1/10000).

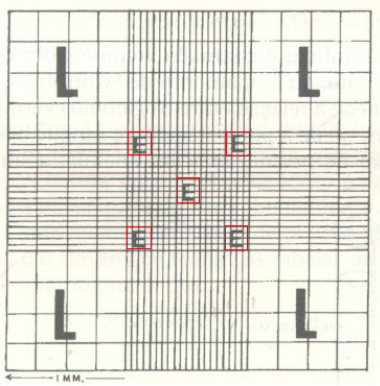

Figura 06 -Local da contagem das hemácias na câmara de Neubauer modificada.

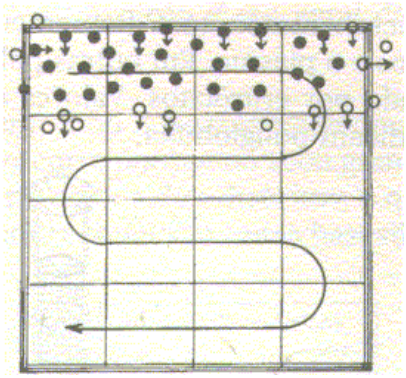

Figura 07 - Células da margem superior e esquerda devem ser incluídas durante a contagem na câmara de Neubauer modificada.

2.4.4 CONTAGEM TOTAL DOS LEUCÓCITOS

Para a contagem de leucócitos foi utilizada a técnica adaptada de Delaney & Garratty (1969) conforme descrição:

Acondicionou-se de 20µl de sangue com EDTA em 0,4 ml do líquido diluidor (Líquido de Turk) em um tubo de hemólise. Após homogenização da mistura, preencheu-se a câmara de Neubauer modificada por atração capilar. Foram lidos os quatro maiores quadrantes da câmara com uma objetiva de microscópio que aumenta 40X (Figura 08). O número total de células encontradas foi multiplicado por 52,5 já que o volume total foi de 420 µl.

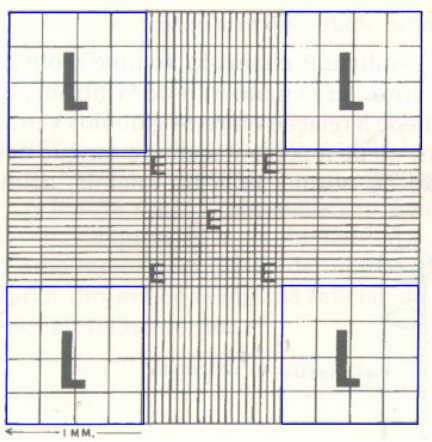

Figura 08 – Local de contagem dos leucócitos na câmara de Neubauer modificada.

2.4.5 CONTAGEM DIFERENCIAL DOS LEUCÓCITOS

A contagem diferencial dos leucócitos foi feita pela leitura do esfregaço sangüíneo. A extensão de sangue total com anticoagulante é feita na lâmina estendendo-se uma pequena gota, formando uma fina película de sangue que depois é corada com "Wright" e examinada ao microscópio óptico com uma objetiva de aumento de 100X. A coloração do esfregaço de sangue foi feita cobrindo a lâmina com o corante durante três minutos e, sem derramar o corante, cobriu-se a lâmina com água destilada. Deixou-se a mistura do corante e água agir durante quinze minutos, depois a lâmina é lavada com água corrente. Foram contadas 100 células para se estabelecer a fórmula leucocitária (Delaney & Garratty,1969).

2.4.6 CONTAGEM DE PLAQUETAS

Foi utilizado o método de Rees-Ecker adaptado por Santos (1999) para a contagem de plaquetas, porém a solução de Rees-Ecker foi substituída por uma solução salina-formol 40%, que segundo Hughes-Jones (1979), funciona bem na prática e dispensa o uso de qualquer corante.

Foi feita uma diluição de 1/200 do sangue coletado com EDTA com o uso de uma micropipeta. A diluição 1/200 foi realizada colocando-se em um tubo de hemólise 10 µl da amostra de sangue, e 2000 µl do líquido diluidor. A solução foi homogenizada e colocada na Câmara de Neubauer modificada. A solução fica em repouso por 10 a 15 minutos para que haja sedimentação das plaquetas (coloca-se ao lado da câmara um algodão embebido em água e cobre-se ambos com uma placa de Petri invertida). As plaquetas contidas nos 25 quadrados do quadrado central da câmara de Neubauer modificada foram contadas (Figura 09), usando ocular X10 e objetiva 40X. Para o cálculo do número total das plaquetas a seguinte fórmula foi aplicada:

$$\text{N° Plaquetas/mm}^3 = \text{N° plaquetas dos 25 quadrados x 10 x 100}$$

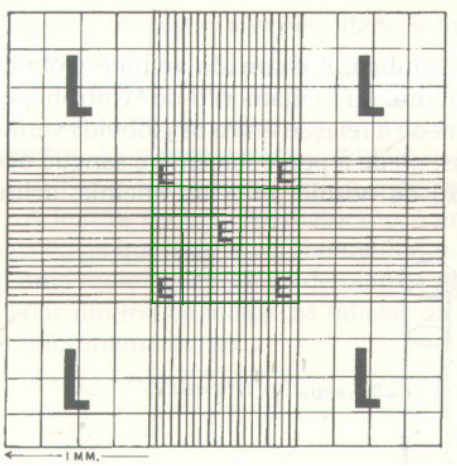

Figura 09 – Local na câmara de Neubauer onde é feita a contagem das plaquetas.

2.4.7 VELOCIDADE DE HEMOSSEDIMENTAÇÃO

Para se medir a velocidade de hemossedimentação foram utilizados tubos de Wintrobe preenchidos com sangue com EDTA até a marca zero com o auxílio de uma

pipeta de Pasteur. Após uma hora em temperatura ambiente faz-se a leitura no limite superior da sedimentação das hemácias.

2.4.8 ÍNDICES HEMATIMÉTRICOS

Foram avaliados dois índices hematimétricos

Volume corpuscular médio (VCM)

O VCM (volume corpuscular médio dos eritrócitos) expresso em fL foi calculado pela seguinte fórmula:

$$VCM = \frac{\text{Hematócrito} \times 100}{\text{Nº de eritrócitos}}$$

Concentração corpuscular média da hemoglobina (CHCM)

A CHCM expressa em g/dl foi calculada pela seguinte fórmula:

$$CHCM = \frac{\text{Hemoglobina} \times 100}{\text{Hematócrito}}$$

2.4.9 DOSAGEM DA HEMOGLOBINA

Para a dosagem da hemoglobina o método escolhido foi o da cianometemoglobina por sua exatidão e sensibilidade que permite dosar todas as formas de hemoglobina, normais e anormais, exceto a sulfemoglobina. Este método foi recomendado, em 1964, pelo *Subcommittee on Hemoglobinometry of The International Committee for Standardization in Hematology* como padrão de referência, em virtude de utilizar um padrão estável e reproduzível comercialmente com alta precisão (Lima *et al.*, 1992).

Colocou-se 20 µl de sangue com EDTA em um tubo de ensaio contendo exatamente 5ml do reativo de Drabkin. Homogenizou-se a mistura, e deixou-se à temperatura ambiente por 10 min para a formação da cianometamoglobina. Transferiu-se a mistura para a cuba do espectrofotômetro e determinou-se a densidade óptica, utilizando o comprimento de onda de 540 nanômetros. Acertou-se o zero com reativo de Drabkin. A densidade óptica do padrão foi determinada colocando-se 5 ml da solução padrão estoque de

cianometemoglobina, equivalente a 15,06 g/dl de hemoglobina, na cuba do espectrofotômetro e determinou-se a densidade óptica, utilizando o comprimento de onda de 540 nm. Acertou-se o zero com reativo de Drabkin. Obteve-se a concentração hemoglobínica em g/dl aplicando-se a seguinte fórmula:

$$\text{Hemoglobina em g/dl} = \frac{\text{D.O. do sangue}}{\text{D.O. do padrão}} \times 15{,}06$$

2.5 BIOQUÍMICA SANGÜÍNEA

O sangue depositado em tubos de vidro sem anticoagulante de 10 ml foi mantido em refrigerador por um período máximo de 10 horas até o momento da centrifugação para separação do soro. O soro foi armazenado em freezer a –20°C durante todo o período de coleta no campo e depois em freezer a –80° até o momento da análise bioquímica.

A determinação dos níveis séricos dos elementos bioquímicos do sangue foi dividida em duas etapas a fim de se verificar as alterações provocadas pelo congelamento nos níveis séricos dos componentes bioquímicos. A análise do primeiro lote (lote 01) foi feita em um intervalo de 14 dias, 30 dias após a colheita (mantido congelado em freezer –80°C durante este período). O segundo lote (lote 02) era composto das mesmas amostras do lote 01, e foi analisado 60 dias após a análise do primeiro, ou seja, 90 dias após a colheita. A análise do lote 02 durou cerca de 11 dias. Todas as análises bioquímicas foram realizadas no Laboratório de Análise Clínicas (LAC) da Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM).

A mensuração das concentrações dos componentes bioquímicos foi feita com kits da Labtest® e auxílio do aparelho Alcyon® *Abbott Laboratories* - USA (Figura 10). O aparelho foi calibrado antes das análises com soros controles. Foram determinados os níveis sorológicos dos seguintes elementos:

- **Albumina**: Reação Verde de Bromocresol;
- **Alanina aminotransferase – ALT**: De acordo com recomendação da International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) (temperatura 37°C);
- **Amilase**: Reação Amilase Iodo (temperatura 37°C);

– **Aspartato transaminase – AST**: De acordo com recomendação da IFCC (temperatura 37°C);

– **Bilirrubina direta**: A amostra é solubilizada em meio ácido e a bilirrubina direta medida por formação de azobilirrubina com dicloroanilina diazotada. A cor formada é proporcional à concentração de bilirrubina direta na amostra;

– **Bilirrubina indireta**: Obtida através da subtração da bilirrubina direta pela bilirrubina total;

– **Bilirrubina total**: A bilirrubina indireta da amostra é desligada da albumina e solubilizada por ação de um acelerador e as bilirrubinas direta e indireta são medidas por formação de azobilirrubina com dicloroanilina diazotada. A cor formada é proporcional à concentração de bilirrubina total na amostra;

– **Cálcio**: Reação cromogênica com Cresolftaleína complexona;

– **Creatinina**: Baseado na reação de Jaffé - Pricato alcalino;

– **Creatina quinase – CK**: De acordo com recomendação da IFCC (temperatura 37°C);

– **Colesterol**: Colesterol oxidase - Reação de Trinder;

– **Desidrogenase lática – DHL**: Método Lactato-INT (temperatura 37°C);

– **Fosfatase alcalina**: Hidrólise da p-nitrofenil fosfato em meio alcalino, de acordo com recomendação da IFCC (temperatura 37°C);

– **Ferro**: Ferrozine;

– **Gama glutamil transferase – GGT**: Hidrólise da gama glutamil p-nitroanilina, de acordo com recomendação da IFCC (temperatura 37°C);

– **Glicose**: Glicose-oxidase - Reação de Trinder;

– **Magnésio**: Reação Magon sulfonado;

– **Proteínas totais**: Os íons cobre (Cu +2) em meio alcalino (Reagente de Biureto) reagem com as ligações peptídicas das proteínas séricas formando cor púrpura, que tem absorbância máxima em 545 nm, proporcial à concentração das proteínas na amostra;

– **Triglicérides**: Glicerol fosfato oxidase;

– **Uréia**: Reação Urease-Berthelot.

Figura 10 – Aparelho Alcyon® do Laboratório de Análises Clínicas do HEMOAM.

2.6 FREQÜÊNCIA CARDÍACA E RESPIRATÓRIA

A freqüência cardíaca foi medida logo após a colheita de sangue com o uso de um estetoscópio por um período mínimo de um minuto.

A freqüência respiratória foi medida por meio da observação da abertura do orifício respiratório também por um período mínimo de um minuto, logo após a obtenção da freqüência cardíaca. O tempo foi medido com uso de um cronômetro.

O aumento do estado de estresse (aumento das freqüências cardíaca e respiratória) foi associado às variações dos parâmetros sangüíneos através do teste de correlação de Spearman (r).

2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O número total de botos analisados foi 109 (N = 109), entretanto, algumas análises foram feitas com menor número de indivíduos em função de uma indisponibilidade de amostra. Além disso, os indivíduos considerados como outliers, por meio da observação de gráficos tipo Box Plot, foram excluídos das análises, diminuindo o N amostral.

O programa Statistica 6.0 foi utilizado em todas as análises do estudo. Foram descritos os valores mínimo e máximo, média, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico dos botos do estudo. Os parâmetros hematológicos e bioquímicos foram definidos como aqueles valores que se encontram dentro do intervalo de confiança (95%). O teste de homocedasticidade de Levene foi empregado para verificar a homocedasticidade

das variâncias. A comparação entre duas médias foi feita com o teste *t* de Student quando as amostras tiveram suas variâncias homocedásticas, e o teste não paramétrico Mann-Whitney foi empregado quando as variâncias não eram homocedásticas.

As comparações entre três ou mais médias foram feitas com o teste estatístico ANOVA quando as variâncias foram homocedásticas, e Kruskal-Wallis quando as variâncias não foram homocedásticas.

O coeficiente de correlação linear de Pearson (r) foi utilizado para observar a variação dos valores hematológicos de acordo com a variação da freqüência cardíaca e respiratória.

3. RESULTADOS

Todos os animais incluídos neste estudo estavam aparentemente em boas condições nutricionais e de saúde. Não foram observados sinais externos de doenças, traumas recentes ou comportamento errático. Foi incluído neste estudo um total de 109 botos. A maioria dos animais capturados era de adultos (42 machos e 42 fêmeas); seguidos dos juvenis (6 machos e 7 fêmeas) e filhotes (6 machos e 6 fêmeas) (Figura 11).

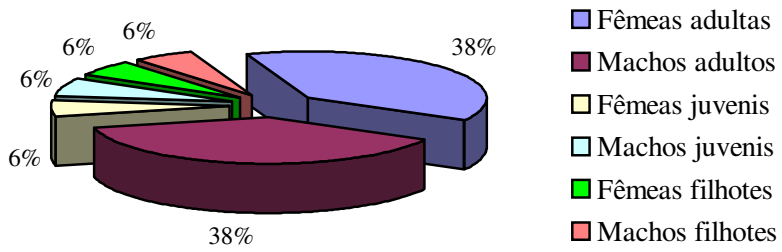

Figura 11 – Porcentagem de cada classe de animais incluída neste estudo.

A divisão das classes etárias foi feita baseada na classificação de Best & da Silva (1984). Além do comprimento total, outras características tais como coloração externa e robustez dos animais foram observadas para a determinação da classe etária. Os machos adultos foram os maiores exemplares e também os mais robustos. Sua coloração é predominantemente rosa, variando desde totalmente rosa até rosa com algumas manchas escuras próximas ao orifício respiratório e dorso. As fêmeas adultas eram claramente

distinguíveis dos machos adultos por seu menor porte e cor mais escura, variando de cinza escuro até cinza claro com algumas áreas do corpo rosadas. A coloração dos animais juvenis apresentou-se cinza claro ou cinza escuro, não havendo distinção entre os sexos. Os filhotes têm uma coloração cinza escuro independente do sexo. Os comprimentos totais das classes etárias podem ser observados na tabela 01.

Tabela 01 – Comprimento mínimo e máximo das diferentes classes etárias e sexuais do boto vermelho.

Classe Etária e Sexo	Comp Min (cm)	Comp Max (cm)
Machos adultos	189	248
Fêmeas adultas	171	212
Machos juvenis	152	190
Fêmeas juvenis	151	166
Machos filhotes	119	169
Fêmeas filhotes	110	143

3.1 ANÁLISE HEMATOLÓGICA

Todos os valores das comparações entre machos e fêmeas, e entre as classes etárias mostraram-se homocedásticos (*Levene's test of homogenity*, p>0,05), portanto as análises estatísticas empregadas foram teste *t* de Student e ANOVA de uma via, respectivamente.

Os valores da concentração de Hb e a concentração hemoglobínica corpuscular média (CHCM) não foram incluídos na comparação entre classes etárias em função do pequeno número de amostras de filhotes e juvenis para estes parâmetros (n= 1 e n= 4, respectivamente).

Os valores mínimos, máximos, média, desvio-padrão (DP), intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) referentes aos valores hematológicos de todos os botos deste estudo podem ser observados na tabela 02.

Tabela 02 - Valores hematológicos de todos os botos do estudo.

	N	**Min**	**Max**	**Média**	DP	**–95%**	**+95%**	**Mediana**	**IQ**
Hct (%)	115	31	46	39,6	2,7	39,1	40,2	40,00	38 - 41
Hemácias ($10^6/mm^3$)	105	2,85	5,97	3,89	0,62	3,77	4,01	3,87	3,41 - 4,29
Hb (g/dl)	24	13,68	18,79	15,51	1,42	14,91	16,11	15,01	14,48 - 16,38
VGM (fL)	105	71	137	104	16	101	107	102	94 - 115
CHCM (g/dl)	24	35,71	46,93	40,32	3,09	39,02	41,63	39,36	37,74 - 42,69
Plaquetas($10^3/mm^3$)	100	78	556	297	107	276	318	285	216 - 380
VHS (mm/hora)	102	42	58	51	04	50	51	51	48 - 53
Leucócitos ($10^3/mm^3$)	104	8,45	38,5	18,74	6,22	17,53	19,95	17,57	14,4 - 28,85
Neutrófilos (%)	72	32	63	47,63	8,33	45,67	49,58	47,00	41,00 - 55,00
Bastonetes (%)	72	00	04	1,04	1,09	0,78	1,30	1,00	0,00 - 2,00
Linfócitos (%)	72	20	50	35,84	7,92	33,95	37,73	35,00	30,00 - 42,00
Monócitos (%)	72	00	07	2,88	1,85	2,44	3,31	3,00	1,00 - 4,00
Eosinófilos (%)	72	04	30	12,82	5,73	11,46	14,17	12,00	8,00 - 17,00
Basófilos (%)	72	00	00	0,00	0,00			0,00	0,00 - 0,00

N = número de animais

3.1.1 COMPARAÇÃO ENTRE MACHOS E FÊMEAS

Utilizou-se o teste *t* de Student na comparação entre os sexos. Não houve diferença significativa ($p>0,05$) entre machos e fêmeas para os valores do hematócrito, contagem de hemácias, contagem de leucócitos, contagem diferencial de leucócitos, concentração de hemoglobina, VGM, plaquetas e VHS. Apenas a CHCM mostrou-se diferente entre os sexos, com machos apresentando valor médio mais alto (Figura 12).

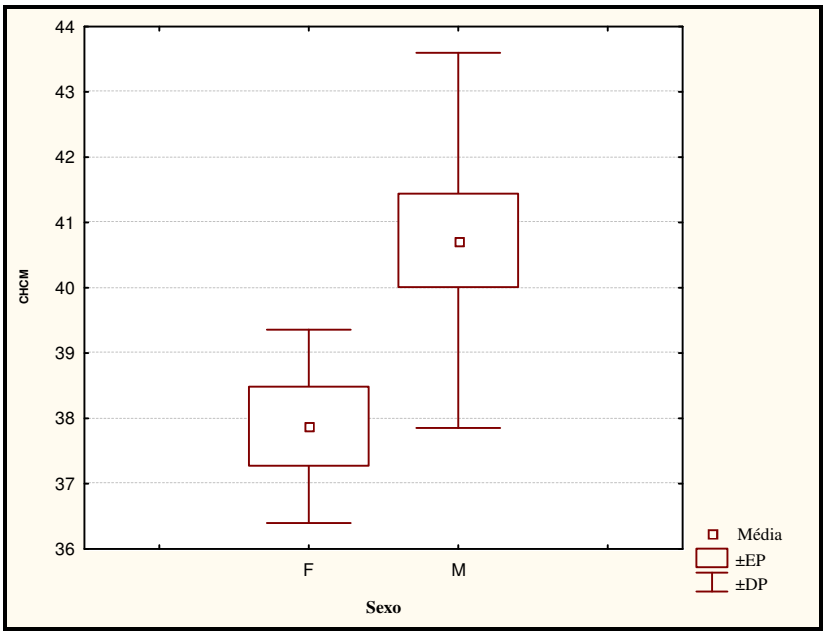

Figura 12 – Média, erro padrão da média (EP) e desvio-padrão (DP) dos valores de CHCM de fêmeas e machos.

Os valores médios, desvio-padrão, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico dos machos e fêmeas podem ser observados na tabela 03.

Tabela 03 – Média, desvio-padrão, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico dos valores hematológicos de fêmeas e machos.

	Fêmeas							Machos								
	N	Média	DP	- 95%	+ 95%	Mediana	IQ	N	Média	DP	- 95%	+ 95%	Mediana	IQ	t	p
Hematócrito	55	39,9	2,8	39,4	40,7	40	39 -41,5	53	39,5	2,5	38,7	40,1	39	38 - 40	0,67	0,50
Hemácias	53	3,86	0,51	3,72	4,00	3,83	3,44 - 4,18	51	3,92	0,74	3,72	4,13	3,91	3,28 - 4,40	-0,52	0,60
Hb	07	15,30	1,22	14,17	16,44	15,03	14,40 -16,18	16	15,52	1,54	14,70	16,35	14,91	14,49 - 16,30	-0,33	0,74
VCM	53	105	14	101	109	103	94 -115	51	103,88	18,41	98,71	109,07	101,01	89,25- 21,49	0,35	0,73
CHCM	**06**	**37,87**	**1,48**	**36,32**	**39,43**	**37,99**	**36,65 -39,08**	**16**	**40,72**	**2,87**	**38,92**	**41,94**	**41,47**	**37,87 - 43,09**	**-2,29**	**0,03**
Plaquetas	48	296	108	265	328	287	220 - 384	51	297	108	267	3281	284	220 - 384	-0,04	0,97
VHS	46	50	06	49	51	51	49 -52	51	51	04	50	52	51	48 - 55	-1,47	0,14
Leucócitos	51	17,99	5,89	16,35	19,64	16,80	13,37 –20,92	49	19,29	6,41	17,48	21,09	17,9	15,15 – 23,50	-0,86	0,39
Neutrófilos	35	48	8,2	45	51	47	41 -54	37	48	8,6	44,7	50,4	47	41- 56	0,09	0,93
Bastonetes	35	01	1,1	0,5	1,2	01	00-02	37	01	1,1	0,8	1,5	01	00 - 02	-0,96	0,34
Linfócitos	34	34	6,9	31,6	36,5	32	30- 39	36	37	8,5	34,6	40,4	38	31- 43	-1,83	0,07
Monócitos	34	03	1,8	2,1	3,4	02	01 - 04	37	03	1,9	2,3	3,6	03	01 - 04	-0,46	0,65
Eosinófilos	35	14	6,4	11,6	16,0	14	09 -18	36	12	4,9	10,2	13,5	11	08 - 14	1,48	0,14
Basófilos	35	00	00					37	00	00						

3.1.2 COMPARAÇÃO ENTRE CLASSES ETÁRIAS

3.1.2.1 Hematócrito

Os valores do hematócrito apresentaram-se constantes e não houve diferenças significativas entre as classes etárias (F= 0,47; p= 0,63). Os valores da média, desvio-padrão, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico dos filhotes, juvenis e adultos podem ser observados na tabela 04.

Tabela 04 – Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) dos valores de hematócrito das classes etárias.

	Hematócrito (%)						
Classe Etária	N	Média	DP	-95%	+ 95%	Mediana	IQ
Filhotes	10	40	2	39	42	40	37 - 41
Juvenis	11	40	2	39	42	40	31- 42
Adultos	77	39	3	39	40	39	32 - 44

N = número de animais

Na comparação entre classes etárias subdivididas em machos e fêmeas também não foram observadas diferenças significativas (F= 0,55; p= 0,69). A tabela 05 mostra os valores médios, desvio-padrão, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico de filhotes machos e fêmeas, juvenis machos e fêmeas, e adultos machos e fêmeas.

Tabela 05 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) dos valores de hematócrito de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas.

		Hematócrito (%)				
Sexo	Idade	N	Média	DP	- 95%	+ 95%
Machos	Filhotes	05	40	2	36	43
	Juvenis	04	40	2	37	42
	Adultos	37	39	3	38	40
Fêmeas	Filhotes	04	38	4	33	44
	Juvenis	05	41	1	40	42
	Adtultos	39	40	2	39	41

N = número de animais

3.1.2.2 Contagem de hemácias

Houve pouca variação nos valores da contagem de hemácias e não foram detectadas diferenças significativas nos valores médios de filhotes, juvenis e adultos (F= 0,97; p= 0,39) (Tabela 06).

Tabela 06 – Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IC) da contagem total de hemácias das classes etárias.

	Hemácias ($10^6/mm^3$)						
Classe Etária	N	Média	DP	-95%	+ 95%	Mediana	IQ
Filhotes	10	3,75	0,46	3,43	4,08	3,68	3,42 - 3,99
Juvenis	11	3,97	0,63	3,55	4,39	3,83	3,00 - 5,31
Adultos	79	3,94	0,68	3,77	4,09	3,91	2,85 - 5,94

N = número de animais

Agrupando-se as classes etárias por sexo também não se observa diferença entre as classes (F= 0,55; p=0,69). A média, desvio-padrão, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico dos filhotes machos, filhote fêmeas, juvenis machos, juvenis fêmeas e adultos machos e adultos fêmeas estão demonstrados na tabela 07.

Tabela 07 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) da contagem total de hemácias de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas.

		Hemácias ($10^6/mm^3$)				
Sexo	Idade	N	Média	DP	- 95%	+ 95%
Machos	Filhotes	06	3,54	0,29	2,83	4,25
	Juvenis	06	4,23	0,79	2,98	5,47
	Adultos	35	3,85	0,66	3,63	4,08
Fêmeas	Filhotes	06	3,53	0,28	3,09	3,96
	Juvenis	07	3,92	0,53	3,09	4,74
	Adtultos	37	3,84	0,53	3,66	4,03

N = número de animais

3.1.2.3 Hemoglobina

As concentrações de hemoglobina apresentaram valores semelhantes entre as diferentes classes etárias. A tabela 08 mostra os valores médios, desvio-padrão, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico para quatro juvenis e 19 adultos. Apenas um filhote teve a concentração de hemoglobina medida (Hb= 16,81 g/dl). As classes etárias não foram subdivididas em machos e fêmeas em função do pequeno número de filhotes e juvenis.

Tabela 08 – Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) da concentração de hemoglobina de adultos e juvenis.

Hemoglobina (g/dl)							
Classe Etária	N	Média	DP	-95%	+ 95%	Mediana	IQ
Adultos	19	15,44	1,53	14,70	16,18	14,82	13,68 - 8,79
Juvenis	04	15,52	0,91	14,07	16,97	15,47	14,55 - 6,59

N = número de animais

3.1.2.4 Volume Corpuscular Médio

O VCM apresentou uma variação maior nos adultos, com intervalo de confiança entre 98,96 fL e 107, 43 fL. Não houve diferença significativa entre as classes etárias (F= 1,35; p= 0,37). A média, desvio-padrão, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico de filhotes, juvenis e adultos estão na tabela 09.

Tabela 09 – Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) do VGM das classes etárias.

VGM (fL)							
Classe Etária	N	Média	DP	-95%	+ 95%	Mediana	IQ
Filhotes	10	109	12	100	118	103	99 - 115
Juvenis	11	104	16	94	115	101	72 - 115
Adultos	79	103	16	99	107	100	71- 136

N = número de animais

As classes etárias dentre machos e fêmeas também não apresentaram diferença significativa entre si (F= 0,41; p= 0,49) (Tabela 10).

Tabela 10 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) de VCM para filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas.

VCM (fL)						
Sexo	Idade	N	Média	DP	- 95%	+ 95%
Machos	Filhotes	05	113	12	83	143
	Juvenis	05	97	18	69	125
	Adultos	35	104	18	98	110
Fêmeas	Filhotes	06	109	8	96	121
	Juvenis	06	105	12	86	124
	Adultos	37	106	15	101	111

N = número de animais

3.1.2.5 Concentração Hemoglobínica Corpuscular Média (CHCM)

Os valores médios, desvio-padrão, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico da CHCM de quatro juvenis e 19 adultos estão demonstrados na tabela 11. Apenas um filhote teve a concentração hemoglobínica corpuscular medida (CHCM= 42,02 g/dl). As classes etárias não foram subdivididas entre machos e fêmeas em função do pequeno número de filhotes e juvenis.

Tabela 11 – Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) de CHCM das classes etárias.

	CHCM (g/dl)						
Classe Etária	N	Média	DP	-95%	+ 95%	Mediana	IQ
Adultos	19	39,94	2,91	38,53	41,34	39,08	35,71 - 45,10
Juvenis	04	41,73	4,20	35,05	48,41	41,68	36,65 - 46,93

N = número de animais

3.1.2.6 Plaquetas

Filhotes e juvenis apresentaram praticamente o mesmo valor médio na contagem de plaquetas, enquanto os adultos apresentaram um valor médio um pouco mais alto. Apesar desta variação, a quantidade de plaquetas não diferiu significativamente entre as classes etárias (F= 0 59; p= 0,56) conforme descrito na tabela 12.

Tabela 12 – Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) do número de plaquetas das classes etárias.

	Plaquetas ($10^3/mm^3$)						
Classe Etária	N	Média	DP	-95%	+ 95%	Mediana	IQ
Filhotes	10	290	73	237	342	289	280 - 328
Juvenis	11	290	84	233	347	286	208 - 466
Adultos	76	299	114	271	326	290	78 - 556

N = número de animais

A média, desvio-padrão, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico da contagem de plaquetas para filhotes machos, filhote fêmeas, juvenis machos, juvenis fêmeas e adultos machos e adultos fêmeas estão demonstrados na tabela 13. Não ocorreu diferença significativa entre os grupos (F= 0,20; p= 0,93).

Tabela 13 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) do número de plaquetas de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas.

		Plaquetas ($10^3/mm^3$)				
Sexo	Idade	N	Média	DP	- 95%	+ 95%
Machos	Filhotes	04	318	64	159	477
	Juvenis	06	280	66	175	386
	Adultos	35	294	123	251	337
Fêmeas	Filhotes	05	288	33	236	341
	Juvenis	05	347	90	203	491
	Adtultos	33	298	120	255	341

N = número de animais

3.1.2.7 Velocidade de Hemossedimentação

Os adultos apresentaram o valor médio da velocidade de hemossedimentação mais elevado, os juvenis apresentaram um valor intermediário, e os filhotes valores apresentaram os valores mais baixos (Tabela 14). Uma diferença significativa foi encontrada entre filhotes e adultos apenas (F= 8,05; P= 0,00) (figura 13).

Tabela 14 – Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) dos valores de VHS das classes etárias.

	VHS (mm/hora)						
Classe Etária	N	Média	DP	-95%	+ 95%	Mediana	IQ
Filhotes	10	49	3	46	51	49	48 - 50
Juvenis	11	49	3	47	52	49	43 - 53
Adultos	75	51	4	50	52	51	20 - 58

N = número de animais

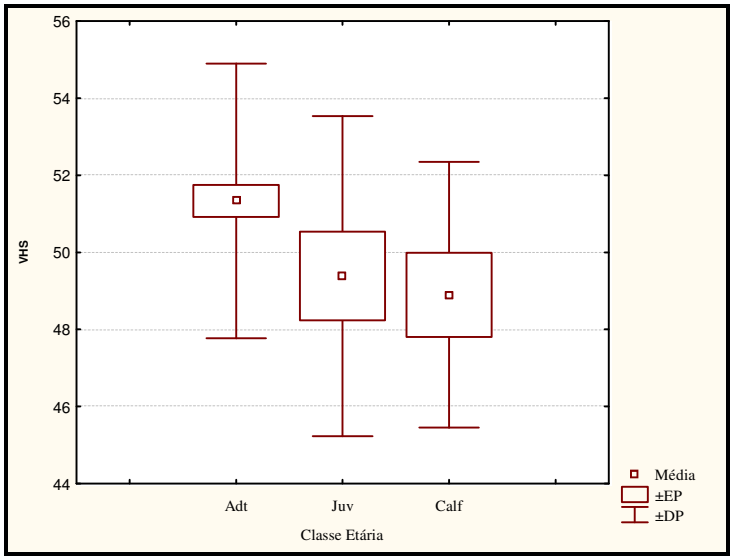

Figura 13 – Média, erro padrão da média (EP) e desvio-padrão (DP) dos valores de VHS de adultos (Adt), juvenis (Juv) e filhotes (Calf).

Fazendo-se a separação de filhotes, juvenis e adultos dentre fêmeas e machos não mais são detectadas diferenças entre os grupos (F= 1,59; p= 0,17). A média, desvio-padrão e intervalo de confiança estão na tabela 15.

Tabela 15 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança dos valores de VHS de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas.

		VHS (mm/hora)				
Sexo	Idade	N	Média	DP	- 95%	+ 95%
Machos	Filhotes	03	49	2	45	53
	Juvenis	05	48	4	43	53
	Adultos	37	52	4	51	53
Fêmeas	Filhotes	05	51	3	47	54
	Juvenis	06	49	4	45	52
	Adtultos	31	50	7	47	52

N = número de animais

3.1.2.8 Contagem Total dos Leucócitos

Os valores da média, desvio-padrão, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico de da contagem total de leucócitos de filhotes, juvenis e adultos estão apresentados na tabela 16.

Tabela 16 – Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) da contagem total de leucócitos das classes etárias.

	Leucócitos ($10^3/mm^3$)						
Classe Etária	N	Média	DP	-95%	+ 95%	Mediana	IQ
Filhotes	12	25,65	6,25	21,87	29,42	24,65	23,7 - 29,40
Juvenis	12	19,69	5,82	15,98	23,39	18,87	15,82 - 20,85
Adultos	80	17,46	5,52	16,22	18,69	15,95	13,65 - 20,8

N = número de animais

Os filhotes apresentaram valores significativamente mais altos que os adultos (F= 3,30; p= 0, 00) conforme demonstra a figura 14.

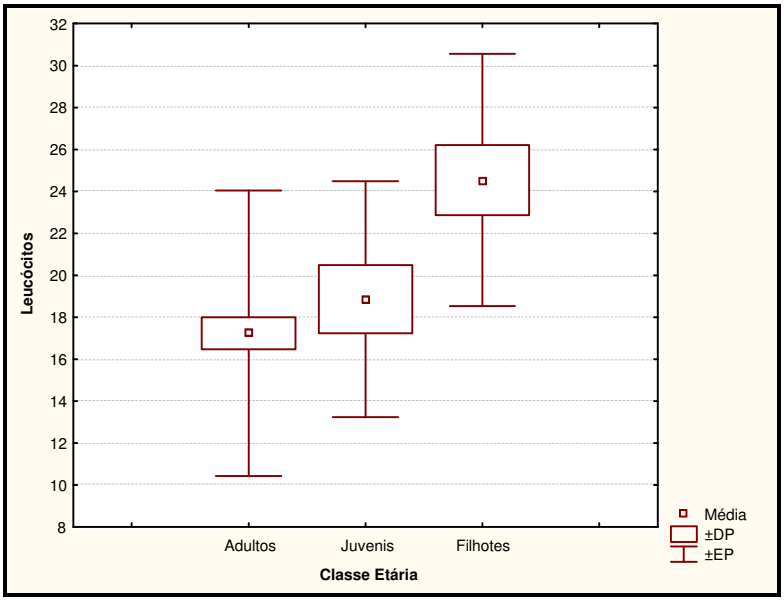

Figura 14 – Média, erro padrão da média (EP) e desvio-padrão (DP) dos valores de leucócitos de adultos, juvenis e filhotes.

Agrupando-se os sexos por classe etária observou-se diferença significativa entre o número de leucócitos de filhotes machos e juvenis machos (p= 0,02); filhotes machos e adultos machos (p= 0,00); filhotes machos e adultos fêmeas (p= 0,00); filhotes fêmeas e adultos fêmeas (p= 0,00) (Figura 15) (F= 3,51). A média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) de todas as classes estão na tabela 17.

Tabela 17 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) da contagem total de leucócitos de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas.

		Leucócitos ($10^3/mm^3$)				
Sexo	Idade	N	Média	DP	- 95%	+ 95%
Machos	Filhotes	06	27,5	6,09	21,11	33,90
	Juvenis	06	18,56	3,57	14,81	22,31
	Adultos	39	18,13	5,95	16,20	20,06
Fêmeas	Filhotes	06	23,16	6,50	16,33	29,99
	Juvenis	06	20,81	7,67	12,76	28,86
	Adultos	40	16,79	5,06	15,18	18,41

N = número de animais

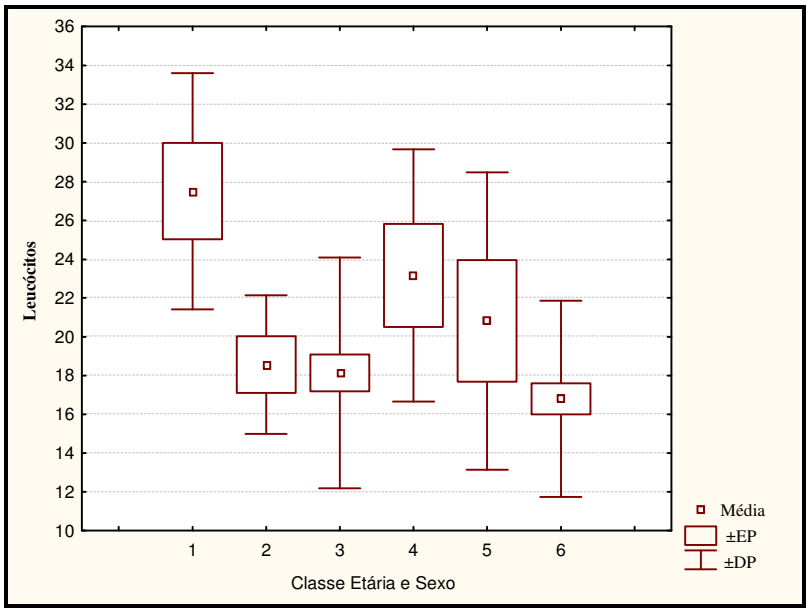

Figura 15 – Média, erro padrão da média (EP) e desvio-padrão (DP) do número de leucócitos de filhotes machos (1), juvenis machos (2), adultos machos (3), filhotes fêmeas (4), juvenis fêmeas (5) e adultos fêmeas (6).

3.1.2.9 Contagem Diferencial dos Leucócitos

Neutrófilos

No esfregaço sangüíneo, os neutrófilos aparecem como células maiores que os eritrócitos. O citoplasma é acidófilo, repleto de grânulos semelhantes a grãos de areia uniformemente espalhados, fracamente corado com o uso de Wright. Seu núcleo possui cromatina em grumos, sendo dividido de dois a sete lóbulos distintos conectados por estreitos filamentos de heterocromatina (figura 16).

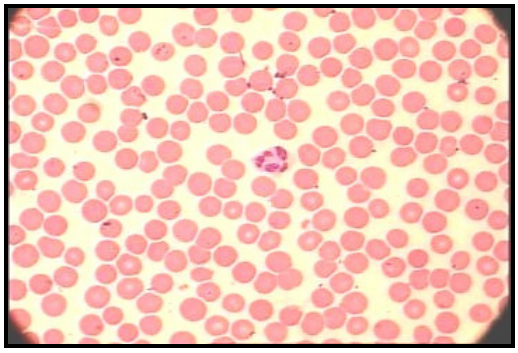

Figura 16 – Neutrófilo do sangue de boto vermelho (*Inia geoffrensis*) (Wright, 100X).

Não houve diferença estatística entre filhotes, juvenis e adultos (F= 0,77; p= 0,57). Os valores da média, desvio-padrão, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico da contagem total de leucócitos das classes etárias estão apresentados na tabela 18.

Tabela 18 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) da porcentagem de neutrófilos das classes etárias.

	Neutrófilos (%)						
Classe Etária	N	Média	DP	-95%	+ 95%	Mediana	IQ
Filhotes	07	43	6	36	50	42	35 - 48
Juvenis	10	47	7	42	53	44	40 - 56
Adultos	54	48	8	46	50	48	41 - 56

N = número de animais

Quando separados entre machos e fêmeas, os valores da proporção de neutrófilos para as classes etárias também não diferiram entre si (F= 0,77; p= 0,57). A tabela 19 mostra os valores da média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) de todas as classes.

Tabela 19 - Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) da porcentagem de neutrófilos de filhotes, juvenis e adultos, separados entre machos e fêmeas.

		Neutrófilos (%)				
Sexo	Idade	N	Média	DP	- 95%	+ 95%
Machos	Filhotes	04	40	4	34	48
	Juvenis	04	48	11	31	65
	Adultos	29	48	8	45	51
Fêmeas	Filhotes	03	44	78	25	63
	Juvenis	06	47	6	40	53
	Adultos	26	49	9	45	52

N = número de animais

Linfócitos

Os linfócitos de boto vermelho são células com mesmo diâmetro ou um pouco maiores que os eritrócitos. Seu núcleo é redondo, ligeiramente indentado, ocupando quase toda a célula. Possui cromatina condensada e rosa brilhante quando corado com Wright (Figura 17). O citoplasma é levemente basófilo e aparece como um halo azul claro ao redor do núcleo e eventualmente não pode ser visualizado no esfregaço sangüíneo em função do grande tamanho do núcleo.

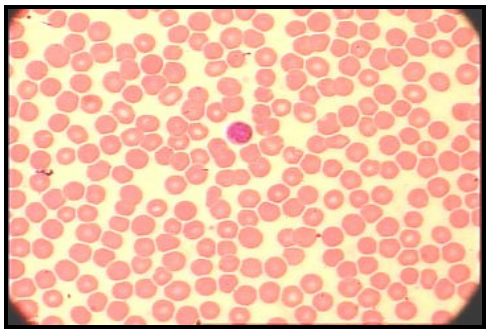

Figura 17 -Linfócito de boto vermelho (*Inia geoffrensis*) com núcleo ocupando quase todo o citoplasma (Wright, 100X).

Os filhotes apresentaram médias significativamente mais elevadas da porcentagem de linfócitos que os adultos (F= 3,65; p= 0,31) (figura 18). A tabela 20 mostra os valores de média, desvio-padrão, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico da porcentagem de linfócitos de adultos, juvenis e filhotes.

Tabela 20 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) da porcentagem de linfócitos das classes etárias.

	Linfócitos (%)						
Classe Etária	N	Média	DP	-95%	+ 95%	Mediana	IQ
Filhotes	06	45	3	41	48	44	43 - 48
Juvenis	10	37	8	31	42	37	30 - 44
Adultos	54	35	8	33	37	34	30 - 41

N = número de animais

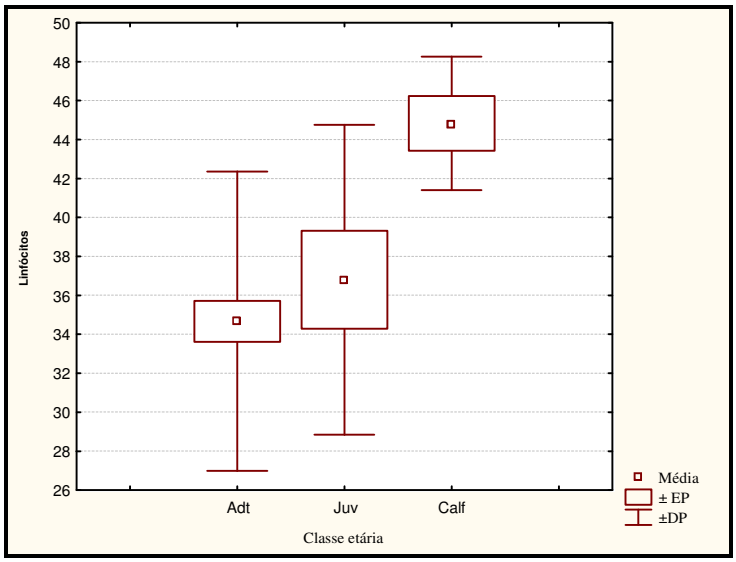

Figura 18 - Média, erro padrão da média (EP) e desvio-padrão (DP) da porcentagem de linfócitos de adultos (Adt), juvenis (Juv) e filhotes (Calf).

Houve diferença significativa nas porcentagens de linfócitos entre as classes etárias quando separadas entre machos e fêmeas. As médias dos filhotes machos e fêmeas foram bastante similares e mais elevadas que as médias dos demais (Figura 19). Os filhotes fêmeas apresentaram médias significativamente mais altas que adultos fêmeas (p= 0,00) e adultos machos (p= 0,02). Já os filhotes machos tiveram médias mais altas que juvenis machos (p= 0,04), adultos machos (p= 0,01) e adultos fêmeas (p= 0,00) (Tabela 21).

Tabela 21 - Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) da porcentagem de linfócitos de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas.

		Linfócitos (%)				
Sexo	Idade	N	Média	DP	- 95%	+ 95%
Machos	Filhotes	04	46	3	42	51
	Juvenis	04	35	10	19	52
	Adultos	29	36	8	33	40
Fêmeas	Filhotes	03	47	9	24	69
	Juvenis	06	38	7	30	45
	Adultos	26	33	7	30	35

N = número de animais

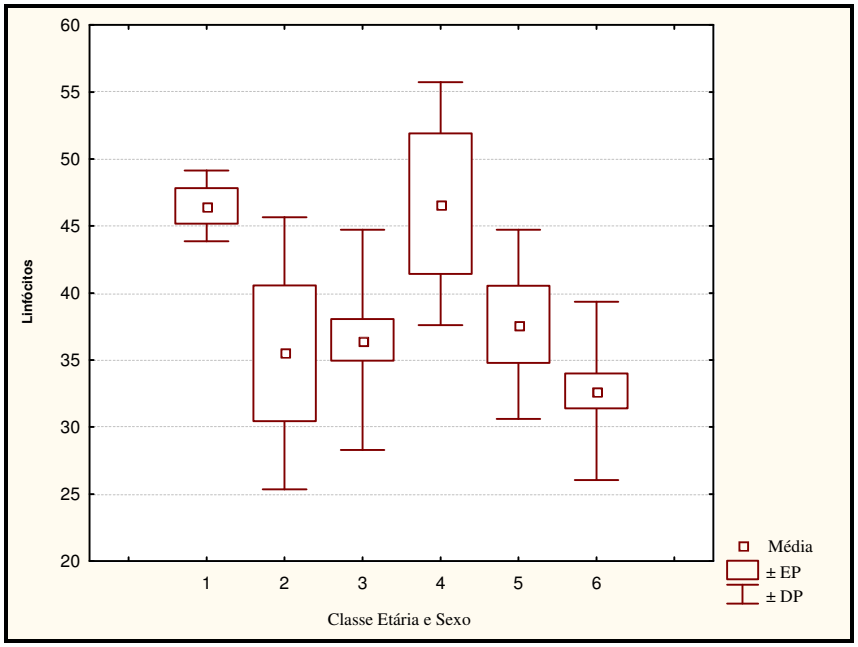

Figura 19 - Média, erro padrão da média (EP) e desvio-padrão (DP) da porcentagem de linfócitos de filhotes machos (1), juvenis machos (2), adultos machos (3), filhotes fêmeas (4), juvenis fêmeas (5) e adultos fêmeas (6).

Monócitos

Os monócitos foram as maiores células observadas no esfregaço sangüíneo dos botos. Seu núcleo ocupa a maior parte do citoplasma, tem o formato de feijão e aparece rosa brilhante quando corado com Wright. Seu citoplasma tem uma cor rosa claro (Figura 20).

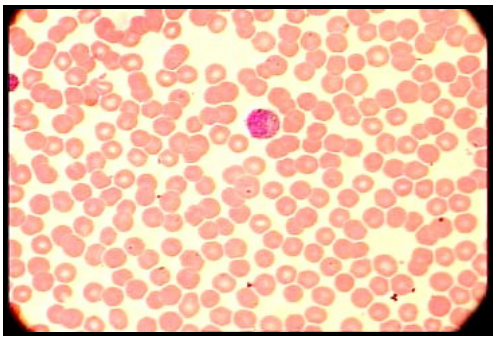

Figura 20 - Monócito de boto vermelho (*Inia geoffrensis*) com núcleo rosa brilhante em forma de feijão (Wright, 100X).

Não houve diferença estatística entre as porcentagens de monócitos de filhotes, juvenis e adultos (F= 0,81; p= 0,44). Os valores da média, desvio-padrão, intervalo de

confiança, mediana e intervalo interqualítico de da contagem total de leucócitos das classes etárias estão apresentados na tabela 22.

Tabela 22 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) da porcentagem de linfócitos das classes etárias.

Monócitos (%)							
Classe Etária	N	Média	DP	-95%	+ 95%	Mediana	IQ
Filhotes	7	3	2	1	5	2	2 - 6
Juvenis	10	3	2	2	5	4	3 - 5
Adultos	55	3	2	2	3	2	1 - 4

N = número de animais

A porcentagem de linfócitos dentre as classes etária também não diferiu quando estas foram separadas por sexo (F= 1,28; p= 0,28) (Tabela 23).

Tabela 23 - Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) da porcentagem de monócitos de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas.

Monócitos (%)						
Sexo	Idade	N	Média	DP	- 95%	+ 95%
Machos	Filhotes	04	3	2	0	7
	Juvenis	04	2	2	0	6
	Adultos	29	3	2	2	4
Fêmeas	Filhotes	03	3	3	0	10
	Juvenis	06	4	1	3	5
	Adultos	26	3	2	2	3

Eosinófilos

Os eosinófilos dos botos são maiores que os eritrócitos e geralmente possuem um núcleo bilobulado rosa brilhante quando o corante de Wright é usado. Seu citoplasma aparece rosa escuro com grânulos bastante evidentes grandes e esféricos (Figura 21).

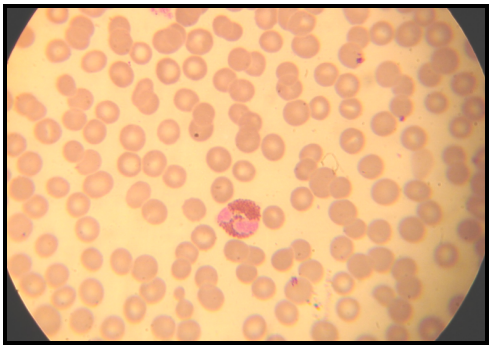

Figura 21 - Eosinófilo de *Inia geoffrensis* com núcleo bilobulado e densa granulação do citoplasma (Wright, 100X).

Houve diferença significativa da proporção de eosinófilos entre as classes etárias. Os adultos apresentaram média significativamente mais elevada que os filhotes (F= 3,55; p= 0,03) (figura 22). A tabela 24 mostra os valores de média, desvio-padrão, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico da porcentagem de eosinófilos de adultos, juvenis e filhotes.

Tabela 24 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) da porcentagem de eosinófilos das classes etárias.

	Eosinófilos (%)						
Classe Etária	N	Média	DP	-95%	+ 95%	Mediana	IQ
Filhotes	06	9	5	4	14	7	6 - 10
Juvenis	10	11	5	8	15	10,	8 - 16
Adultos	55	14	6	12	15	13	9- 18

N = número de animais

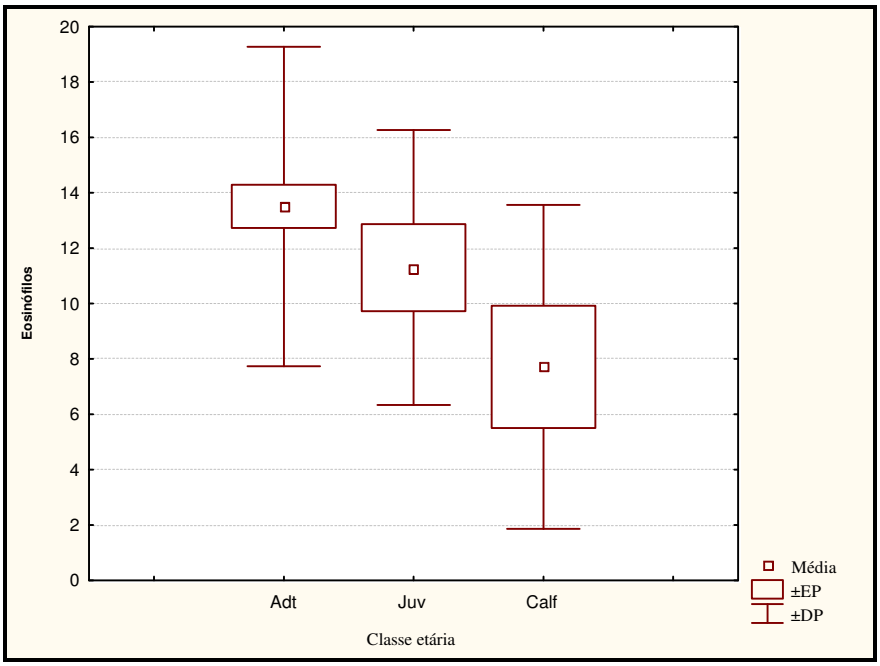

Figura 22 - Média, erro padrão da média (EP) e desvio-padrão (DP) da porcentagem de linfócitos de adultos (Adt), juvenis (Juv) e filhotes (Calf).

Também houve diferença significativa da porcentagem de eosinófilos entre filhote, juvenis e adultos quando separados por sexo (F= 3,47). As fêmeas adultas apresentaram médias mais elevadas que todas as outras classes, com diferenças significativas entre juvenis fêmeas (p= 0,04), filhotes fêmeas (p= 0,00), adultos machos (p= 0,00) e filhotes machos (p= 0,03) (figura 23). A tabela 25 mostra a média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) da porcentagem de eosinófilos de todas as classes.

Tabela 25 - Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) da porcentagem de eosinófilos de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas.

		Eosinófilos (%)				
Sexo	Idade	N	Média	DP	- 95%	+ 95%
Machos	Filhotes	04	9	8	0	22
	Juvenis	04	12	5	4	21
	Adultos	29	11	4	10	13
Fêmeas	Filhotes	03	6	1	4	7
	Juvenis	06	10	5	5	16
	Adultos	26	16	6	13	18

N = número de animais

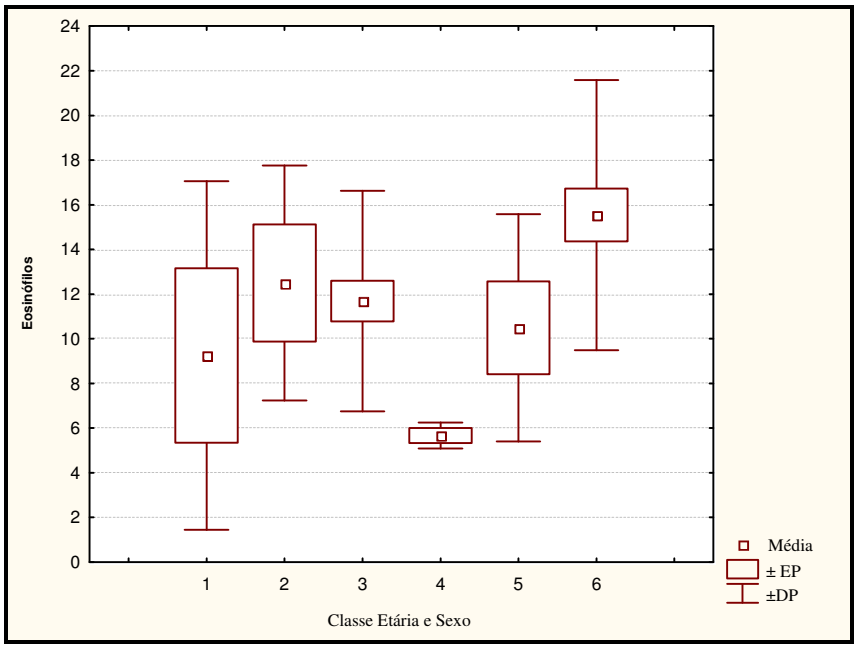

Figura 23 - Média, erro padrão da média (EP) e desvio-padrão (DP) da porcentagem de linfócitos de filhotes machos (1), juvenis machos (2), adultos machos (3), filhotes fêmeas (4), juvenis fêmeas (5) e adultos fêmeas (6).

Basófilos

Não foi detectada a presença de basófilos durante a leitura dos esfregaços sangüíneos.

3.1.3 COMPARAÇÃO ENTRE FÊMEAS PRENHES E VAZIAS

O teste t de Student foi utilizado na comparação dos valores hematológicos entre fêmeas prenhes e vazias, já que os valores apresentaram-se homocedásticos ($p>0,05$). Os

valores de Hb e CHCM não foram incluídos na análise devido ao pequeno número de amostras.

Os valores dos parâmetros hematológicos foram bastante similares entre fêmeas adultas prenhes e vazias. Um valor médio um pouco mais alto de plaquetas (sem significado estatístico) foi encontrado para fêmeas vazias (tabela 26). Os valores médios, desvio-padrão, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico estão na tabela 26.

Tabela 26 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) dos parâmetros hematológicos de fêmeas prenhes e vazias.

	Vazias					Prenhes						
	N	Média	DP	-95%	+95%	**N**	Média	DP	-95%	+95%	t	p
Hematócrito (%)	23	40	2	39	41	10	39	3	38	41	1,01	0,31
Hemácias ($10^6/mm^3$)	21	3,78	0,46	3,58	3,99	10	3,73	0,60	3,31	4,16	0,27	0,78
VCM (fL)	21	108	12	102	113	10	109	20	94	123	-0,13	0,89
Plaquetas ($10^3/mm^3$)	21	314	131	255	374	09	275	108	192	358	0,79	0,43
VHS (mm/hora)	17	50	3	48	52	09	51	3	49	54	-0,81	0,42
Leucócitos ($10^3/mm^3$)	21	15,08	3,71	13,39	16,77	10	15,49	4,33	12,39	18,60	-0,27	0,78
Neutrófilos (%)	12	49	10	42	55	14	50	5	45	55	0,36	0,72
Bastonetes (%)	12	1,00	1	0	2	14	1	1	0	2	0,35	0,73
Linfócitos (%)	12	33,25	7	29	37	14	30	5	25	34	-1,60	0,12
Monócitos (%)	12	2	2	1	4	14	3	1	1	4	0,38	0,71
Eosinófilos (%)	12	15	7	10	19	14	17	2	15	18	1,03	0,31
Basófilos (%)*	12	00				14	00					

N = número de animais; * Não foi detectada a presença de basófilos.

3.2 ANÁLISE BIOQUÍMICA

Os valores da média, desvio-padrão, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico de albumina, ALT, amilase, AST, bilirrubina direta, bilirrubina indireta, bilirrubina total, cálcio, CK, colesterol, creatinina, DHL, fosfatase alcalina, ferro, GGT, glicose, magnésio, proteínas totais, triglicérides e uréia do plasma dos de todos os botos deste estudo estão apresentados na tabela 27.

Tabela 27 – Bioquímica sérica sangüínea do Boto Vermelho *Inia geoffrensis* (de Blainville, 1817).

	N	Min	Max	Média	DP	- 95%	+ 95%	Mediana	IQ
Albumina (g/dl)	81	1,4	8,4	3,4	1,7	3,0	3,8	2,5	2,4 - 4,6
ALT (UI/L)	74	04	452	100	115	74	127	57	12 -153
Amilase (UI/L)	80	19	345	88	75	72	105	57	37 -110
AST (UI/L)	74	69	391	146	62	132	160	128	109 - 157
B Direta (mg/dl)	80	0,1	1,8	0,4	0,4	0,3	0,5	0,3	0,2 - 0,5
B Indireta (mg/dl)	79	0,1	1,80	0,3	0,4	0,3	0,4	0,2	0,1 - 0,4
B total (mg/dl)	79	0,2	3,2	0,7	0,7	0,6	0,9	0,5	0,3 - 0,9
Cálcio (mg/dl)	53	9,4	24,0	15,2	4,42	14,0	16,5	15,3	10,9 - 18,9
CK (UI/L)	38	16	250	90	64	69	111	68	43 -138
Colesterol (mg/dl)	81	105	847	333	157	298	367	282	221 -395
Creatinina (mg/dl)	81	1,2	3,1	2,0	0,4	1,9	2,1	2,0	1,7 - 2,3
DHL (UI/L)	81	193	1230	570	242	517	624	510	388 -730
F Alcalina (UI/L)	74	35	157	89	34	81	96	82	56 -118
Ferro (µg/dl)	31	63	290	158	59	136	180	147	113 - 201
GGT (UI/L)	72	12	41	21	6	19	22	19	17 - 23
Glicose (mg/dl)	78	57	403	184	74	167	201	157	138 - 224
Magnésio (mg/dl)	79	1,2	10,0	4,5	2,2	4,0	5,0	4,7	2,5 -6,4
P Totais (g/dl)	81	4,6	18,0	10,4	2,9	9,7	11,0	9,9	8,3 -11,5
Triglic. (mg/dl)	81	33	389	122	85	103	141	98	64 -138
Uréia (mg/dl)	81	44	255	121	48	110	132	111	90 -151

N = número de animais

3.2.1 COMPARAÇÃO ENTRE MACHOS E FÊMEAS

Na comparação entre machos e fêmeas, apenas os valores de amilase e CK não apresentaram valores homocedásticos (Levene's test of homogenity, $p<0,05$) e para tais comparações utilizou-se o teste de Mann-Whitney. Não foram detectadas diferenças entre os sexos nos níveis de amilase e CK ($Z= 1,47$; $p=0,14$ e $Z= -0,68$; $p= 0,49$ respectivamente).

A comparação entre os sexos de todos os outros parâmetros foi feita usando o teste *t* de Student. Os valores médios, desvio-padrão e intervalo de confiança de todas as fêmeas e machos podem ser observados na tabela 28.

Tabela 28 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) dos níveis séricos dos parâmetros bioquímicos de fêmeas e machos.

	Fêmeas					Machos						
	N	Média	DP	-95%	+95%	N	Média	DP	-95%	+95%	t	p
Albumina (g/L)	46	3,4	1,7	2,9	3,9	35	3,4	1,7	2,8	4,0	-0,10	0,91
ALT (UI/L)	44	97	140	54	139	32	105	98	70	140	-0,29	0,76
Amilase (UI/L)	46	87	74	70	103	34	65	38	51	79	------	----
AST (UI/L)	42	144	48	129	159	34	170	111	131	209	-1,39	0,16
B Direta (mg/dl)	46	0,4	0,43	0,33	0,6	35	0,5	0,4	0,3	0,6	-0,21	0,83
B Indireta (mg/dl)	44	0,3	0,4	0,2	0,5	35	0,4	0,3	0,3	0,5	-0,69	0,48
B total (mg/dl)	44	0,72	0,7	0,5	0,9	35	0,9	0,7	0,6	1,1	-0,85	0,39
Cálcio (mg/dl)	30	15,8	4,0	14,3	17,3	23	14,5	4,9	12,3	16,6	1,11	0,27
CK (UI/L)	46	115	108	82	149	16	162	170	71	252	------	----
Colesterol (mg/dl)	46	347	174	296	399	35	313	133	268	359	0,96	0,33
Creatinina (mg/dl)	46	1,9	0,4	1,9	2,1	35	2,1	0,4	1,9	2,2	-1,11	0,26
DHL (UI/L)	46	605	254	529	680	35	526	221	450	601	1,46	0,14
F Alcalina (UI/L)	44	84	32	75	94	35	114	62	93	135	-2,78	0,01
Ferro (µg/dl)	24	145	84	109	180	12	153	50	122	185	-0,33	0,73
GGT (UI/L)	42	20	7	18	23	31	21	5	19	23	-0,17	0,86
Glicose (mg/dl)	44	184	75	162	207	34	184	75	158	210	0,013	0,98
Magnésio (mg/dl)	44	4,3	2,3	3,6	5,0	35	4,8	2,1	4,0	5,5	-1,00	0,31
P Totais (g/dl)	46	10,5	2,9	9,7	11,4	35	10,1	3,0	9,1	11,2	0,61	0,53
Triglic. (mg/dl)	46	118	91	91	145	35	128	78	101	154	-0,52	0,59
Uréia (mg/dl)	46	120	49	105	134	35	123	49	106	139	-0,25	0,80

N = número de animais

Com exceção de cálcio, colesterol e DHL, os machos apresentaram médias mais elevadas para quase todos os elementos, porém diferenças estatisticamente significativas só foram observadas nos valores da atividade sérica de fosfatase alcalina. Os machos apresentaram uma média de 114 UI/L, enquanto as fêmeas apresentaram uma média de 84 UI/L (figura 24).

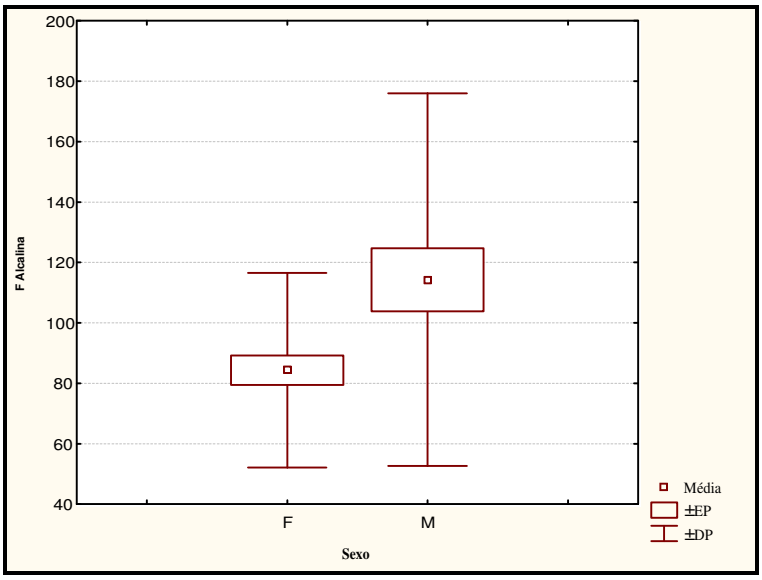

Figura 24 - Média, erro padrão da média (EP) e desvio-padrão (DP) dos valores de fosfatase alcalina de fêmeas (F) e machos (M).

3.2.2 COMPARAÇÃO ENTRE AS CLASSES ETÁRIAS

3.2.2.1 Albumina

Na comparação dos níveis séricos de albumina entre filhotes, juvenis e adultos foi utilizado o teste não paramétrico Kruskal-Wallis, já que as variâncias não foram homocedásticas. Não foi observada diferença significativa entre as classes (H= 2,22; p= 0,32). A média, desvio-padrão, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico dos filhotes, juvenis e adultos estão na tabela 29.

Tabela 29 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) dos níveis séricos de albumina das classes etárias.

Albumina (mg/dl)							
Classe Etária	N	Média	DP	-95%	+ 95%	Mediana	IQ
Filhotes	08	4,4	2,6	2,2	6,55	2,7	2,5 - 6,9
Juvenis	09	2,7	0,4	2,3	3,0	2,6	2,4 - 2,8
Adultos	63	3,3	1,6	2,9	3,74	2,5	2,4 - 4,8

N = número de animais

Agrupando-se as classes etárias por sexo também não se observa diferença entre classes etárias (H= 3,43; p= 0,63). A média, desvio-padrão, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico dos filhotes machos, filhote fêmeas, juvenis machos, juvenis fêmeas e adultos machos e adultos fêmeas estão demonstrados na tabela 30.

Tabela 30 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) dos níveis séricos de albumina de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas.

Albumina (mg/dl)						
Sexo	Idade	N	Média	DP	- 95%	+ 95%
Machos	Filhotes	05	4,8	1,1	2,9	8,4
	Juvenis	03	2,6	1,9	0,3	3,2
	Adultos	26	3,2	2,6	1,29	3,7
Fêmeas	Filhotes	03	3,7	-1,8	2,2	9,3
	Juvenis	06	2,7	2,2	0,5	3,3
	Adultos	37	3,5	2,9	1,8	4,1

N = número de animais

3.2.2.2 Alanina aminotransferase (ALT)

As variâncias encontradas na comparação entre as classes etárias foram homocedásticas para ALT, e o teste ANOVA de uma via foi utilizado. Não foram observadas diferenças significativas entre filhotes juvenis e adultos nos valores da atividade sérica de ALT (F= 0,46; p= 0,64). A tabela 31 mostra os valores médios, desvio-padrão, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico das classes etárias.

Tabela 31 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) da atividade sérica de ALT das classes etárias.

ALT (UI/L)							
Classe Etária	N	Média	DP	-95%	+ 95%	Mediana	IQ
Filhotes	07	38	53	-11	87	11	5 - 114
Juvenis	06	52	69	-20	125	16	7 - 77
Adultos	54	125	148	85	166	67	13 - 175

N = número de animais

Na comparação entre classes etárias subdivididas em machos e fêmeas também não foram observadas diferenças significativas (F= 1,16; p= 0,34). A tabela 32 mostra os valores médios, desvio-padrão, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico da

atividade de ALT de filhotes machos e fêmeas, juvenis machos e fêmeas e adultos machos e fêmeas.

Tabela 32 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) da atividade sérica de ALT de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas.

		ALT (UI/L)				
Sexo	Idade	N	Média	DP	- 95%	+ 95%
Machos	Filhotes	04	62	-37	62	161
	Juvenis	04	15	3	7	26
	Adultos	26	155	99	137	211
Fêmeas	Filhotes	03	16	-8	6	20
	Juvenis	04	74	-50	78	198
	Adultos	34	96	47	141	145

N = número de animais

3.2.2.3 Amilase

Foi empregado o teste ANOVA de uma via na comparação dos valores da atividade sérica de amilase, pois as variâncias mostraram-se homocedásticas durante a análise. Apesar de os juvenis apresentarem média mais baixa que filhotes e adultos, uma diferença estatisticamente significativa não encontrada entre as classes etárias (F= 1,08; p= 0,35). As médias, desvio-padrão, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico da atividade enzimática de amilase das classes etárias estão na tabela 33.

Tabela 33 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) da atividade sérica de amilase das classes etárias.

	Amilase (UI/L)						
Classe Etária	N	Média	DP	-95%	+ 95%	Mediana	IQ
Filhotes	08	81	73	14	149	62	37 -172
Juvenis	09	39	15	23	55	41	33 - 50
Adultos	62	83	6	66	101	61	40 - 113

N = número de animais

A média, desvio-padrão, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico de filhotes machos, filhote fêmeas, juvenis machos, juvenis fêmeas e adultos machos e adultos fêmeas estão demonstrados na tabela 34. As variâncias não foram homocedásticas e o teste Kruskal-Wallis foi empregado. Não ocorreu diferença significativa entre os grupos (H=9,95; p= 0,07).

Tabela 34 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas.

Amilase (UI/L)						
Sexo	Idade	N	Média	DP	- 95%	+ 95%
Machos	Filhotes	05	108	-9	94	225
	Juvenis	03	44	-9	21	96
	Adultos	26	63	48	35	77
Fêmeas	Filhotes	03	99	-193	118	391
	Juvenis	06	43	30	13	57
	Adultos	36	111	81	89	141

N = número de animais

3.2.2.4 Aspartato transaminase (AST)

Foi empregado o teste estatístico ANOVA de uma via, já que as variâncias foram homogêneas na análise comparativa entre as classes etárias. Os níveis médios da atividade sérica de AST mais baixos foram observados nos juvenis, porém não houve uma diferença significativa entre juvenis, filhotes e adultos (F= 0,39; p= 0,68). As médias, desvio-padrão, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico da atividade de AST das classes etárias estão na tabela 35.

Tabela 35 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) da atividade sérica de AST das classes etárias.

AST (UI/L)							
Classe Etária	N	Média	DP	-95%	+ 95%	Mediana	IQ
Filhotes	08	156	109	55	257	116	96 - 225
Juvenis	09	145	11	133	157	138	133 - 152
Adultos	62	177	148	137	218	128,5	110 - 187

N = número de animais

Não houve diferença significativa da atividade de AST entre as classes etárias quando separadas por sexo (F= 2,59; p= 0,05). A tabela 36 mostra as médias, desvio-padrão, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico dos valores da atividade sérica de AST das diferentes classes.

Tabela 36 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) da atividade de sérica AST de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas.

		AST (UI/L)				
Sexo	Idade	N	Média	DP	- 95%	+ 95%
Machos	Filhotes	05	195	35	129	355
	Juvenis	04	144	90	34	197
	Adultos	24	198	130	161	266
Fêmeas	Filhotes	03	127	-5	53	259
	Juvenis	05	145	128	14	162
	Adultos	35	194	132	179	255

N = número de animais

3.2.2.5 Bilirrubina Direta

As variâncias da comparação dos níveis de bilirrubina entre filhotes, juvenis e adultos mostraram-se homocedásticas e utilizou-se o teste ANOVA de uma via. Os filhotes apresentaram as maiores médias (tabela 37), e não houve diferença significativa entre as classes (F= 0,70; p= 0,50).

Tabela 37 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) dos níveis séricos de bilirrubina direta das classes etárias.

	Bilirrubina Direta (mg/dl)						
Classe Etária	N	Média	DP	-95%	+ 95%	Mediana	IQ
Filhotes	08	0,6	0,5	0,2	1,0	0.3	0,2 - 1,0
Juvenis	09	0,3	0,2	0,1	0,4	0.2	0,1 - 0,4
Adultos	62	0,4	0,3	0,3	0,5	0.3	0,2 - 0,5

N = número de animais

Quando as classes etárias foram subdivididas em machos e fêmeas também não ocorreu diferença significativa entre os níveis de bilirrubina no plasma (F= 1,24; p= 0,30) (tabela 38).

Tabela 38 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) dos níveis séricos de bilirrubina direta de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas.

		Bilirrubina Direta (mg/dl)				
Sexo	Idade	N	Média	DP	- 95%	+ 95%
Machos	Filhotes	05	0,6	0	0,5	1,1
	Juvenis	03	0,3	0	0,2	0,8
	Adultos	25	0,4	0,3	0,3	0,5
Fêmeas	Filhotes	03	0,6	0	0,5	1,9
	Juvenis	06	0,2	0	0,1	0,4
	Adultos	37	0,5	0,3	0,4	0,6

N = número de animais

3.2.2.6 Bilirrubina Indireta

Assim como a bilirrubina direta, as maiores médias de bilirrubina indireta foram observadas nos filhotes. Da mesma forma, não ocorreu uma diferença significativa entre as classes quando se empregou o teste ANOVA de uma via (F= 0,41; p = 0,66). A tabela 39 mostra as médias, desvio-padrão, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico dos níveis séricos de bilirrubina indireta das classes etárias.

Tabela 39 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) dos níveis séricos de bilirrubina indireta das classes etárias.

	Bilirrubina Indireta (mg/dl)						
Classe Etária	N	Média	DP	-95%	+ 95%	Mediana	IQ
Filhotes	08	0,5	0,6	0,0	1,1	0,2	0,1 - 0,8
Juvenis	10	0,1	0,0	0,0	0,2	0,1	0,1 - 0,2
Adultos	61	0,3	0,4	0,2	0,5	0,2	0,1 - 0,4

N = número de animais

Também não se observa diferença significativa entre as classes etárias quando separadas entre machos e fêmeas (F=0,27; p= 0,92). As médias, desvio-padrão, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico podem ser observadas na tabela 40.

Tabela 40 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) dos níveis séricos de bilirrubina indireta de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas.

		Bilirrubina Indireta (mg/dl)				
Sexo	Idade	N	Média	DP	- 95%	+ 95%
Machos	Filhotes	05	0,5	0,1	0,3	0,9
	Juvenis	04	0,4	0,0	0,4	1,0
	Adultos	26	0,4	0,2	0,4	0,5
Fêmeas	Filhotes	03	0,7	0,0	1,0	3,1
	Juvenis	06	0,1	0,1	0,1	0,2
	Adultos	35	0,3	0,1	0,4	0,5

N = número de animais

3.2.2.7 Bilirrubina Total

Os níveis de bilirrubina total também foram mais altos no plasma dos filhotes quando comparados com juvenis e adultos. Porém, através do teste ANOVA de uma via, não se observou diferenças estatisticamente significantes (F= 0,28; p= 0,76). A média

desvio-padrão, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico das classes etárias estão na tabela 41.

Tabela 41 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) dos níveis séricos de bilirrubina total das classes etárias.

Bilirrubina Total (mg/dl)							
Classe Etária	N	Média	DP	-95%	+ 95%	Mediana	IQ
Filhotes	08	1,1	1,0	0,2	2,1	0,8	0,4 - 1,6
Juvenis	09	0,4	0,2	0,2	0,6	0,3	0,3 - 0,5
Adultos	61	0,8	0,7	0,6	1,0	0,5	0,3 - 0,8

N = número de animais

Na comparação entre filhotes fêmeas, filhotes machos, juvenis fêmeas, juvenis machos, adultos fêmeas e adultos machos também não ocorreu diferença significativa (F= 0,74; p= 0,59) (tabela 42).

Tabela 42 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) dos níveis séricos de bilirrubina total de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas.

Bilirrubina Total (mg/dl)						
Sexo	Idade	N	Média	DP	- 95%	+ 95%
Machos	Filhotes	05	1,0	0,2	0,6	1,8
	Juvenis	03	0,6	0,0	0,5	1,7
	Adultos	26	0,8	0,5	0,7	1,1
Fêmeas	Filhotes	03	1,3	0,0	1,5	5,0
	Juvenis	06	0,4	0,2	0,1	0,5
	Adultos	35	0,7	0,5	0,7	0,9

N = número de animais

3.2.2.8 Cálcio

As variâncias da comparação dos níveis séricos de cálcio entre filhotes, juvenis e adultos não foram homocedásticas ($p < 0,05$). Através do teste não paramétrico Kruskal-Wallis notou-se que os filhotes têm níveis significativamente mais altos de cálcio que os adultos (H= 9,29; p= 0,00) (figura 25). Na tabela 43 podem ser observados os valores médios, desvio-padrão, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico dos níveis séricos de cálcio das três classes etárias.

Tabela 43 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) dos níveis séricos de cálcio das classes etárias.

	Cálcio (mg/dl)						
Classe Etária	N	Média	DP	-95%	+ 95%	Mediana	IQ
Filhotes	05	21,1	1,7	**19,0**	**23,2**	21,1	20,2 - 22,1
Juvenis	07	15,5	3,6	**12,1**	**18,8**	16,4	11,2 - 17,4
Adultos	41	14,5	4,3	**13,1**	**15,8**	14,0	10,6 - 18,4

N = número de animais

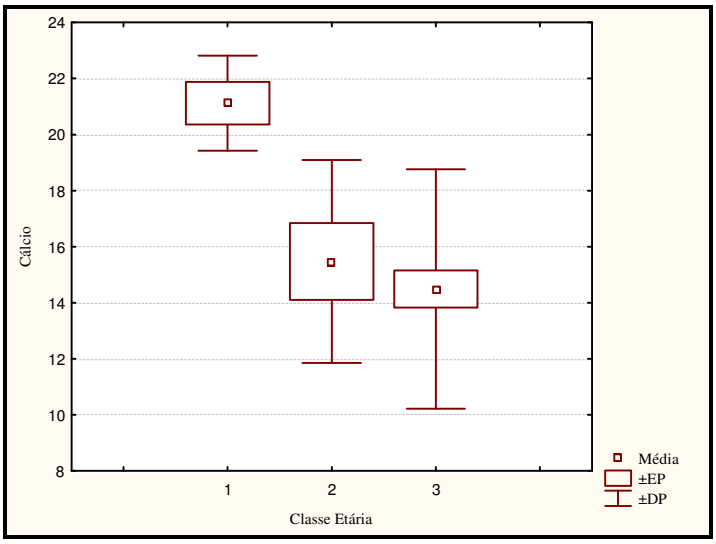

Figura 25 - Média, erro padrão da média (EP) e desvio-padrão (DP) dos níveis séricos de cálcio de filhotes (1), juvenis (2) e adultos (3).

Na comparação dos níveis de cálcio entre as classes etárias de machos e fêmeas ocorreram diferenças estatisticamente significativas entre filhotes machos e juvenis machos (p=0,04); filhotes machos e adultos machos (p= 0,00); filhotes machos e adultos fêmeas (p=0,02) e filhotes fêmeas e adultos machos (p= 0,01). È interessante notar que não há diferença entre filhotes fêmeas e juvenis fêmeas (p= 0,18) e filhotes fêmeas e adultos fêmeas (p= 0,05) (figura 26). A tabela 44 mostra as médias, desvio-padrão, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico dos níveis de cálcio das diferentes classes.

Tabela 44 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) dos níveis séricos de cálcio de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas.

		Cálcio (mg/dl)				
Sexo	Idade	N	Média	DP	- 95%	+ 95%
Machos	Filhotes	03	21,1	15,6	**2,2**	**26,6**
	Juvenis	03	14,3	5,2	**3,7**	**23,4**
	Adultos	17	13,3	11,0	**4,5**	**15,7**
Fêmeas	Filhotes	03	21,1	9,1	**1,3**	**33,2**
	Juvenis	04	16,3	10,2	**3,9**	**22,5**
	Adultos	24	15,3	13,7	**4,0**	**17,0**

N = número de animais

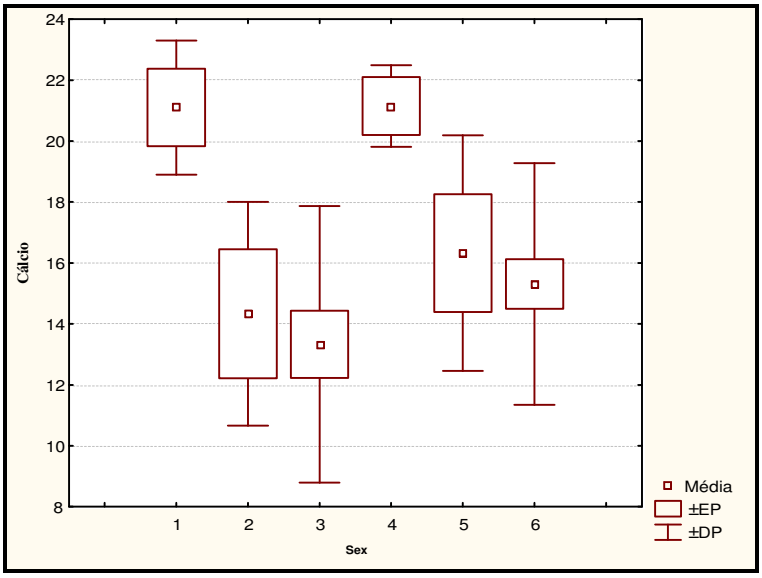

Figura 26 - Média, erro padrão da média (EP) e desvio-padrão (DP) dos níveis séricos de cálcio de filhotes machos (1), juvenis machos (2), adultos machos (3), filhotes fêmeas (4), juvenis fêmeas (5) e adultos fêmeas (6).

3.2.2.9 Creatina quinase (CK)

Através do teste não paramétrico Kruskal-Wallis (as variâncias não foram homocedásticas) observou-se que os filhotes apresentaram valores significativamente mais elevados da atividade sérica de CK que juvenis e adultos (H= 8,19; p= 0,01) (figura 27). Na tabela 45 pode-se observar os valores médios, desvio-padrão, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico da atividade enzimática de CK de filhotes, juvenis e adultos.

Tabela 45 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) da atividade sérica de CK das classes etárias.

	CK (UI/L)						
Classe Etária	N	Média	DP	-95%	+ 95%	Mediana	IQ
Filhotes	05	298	156	**104**	**493**	344	138- 428
Juvenis	08	115	101	**30**	**200**	61	33 - 228
Adultos	30	84	64	**60**	**109**	66	43 - 121

N = número de animais

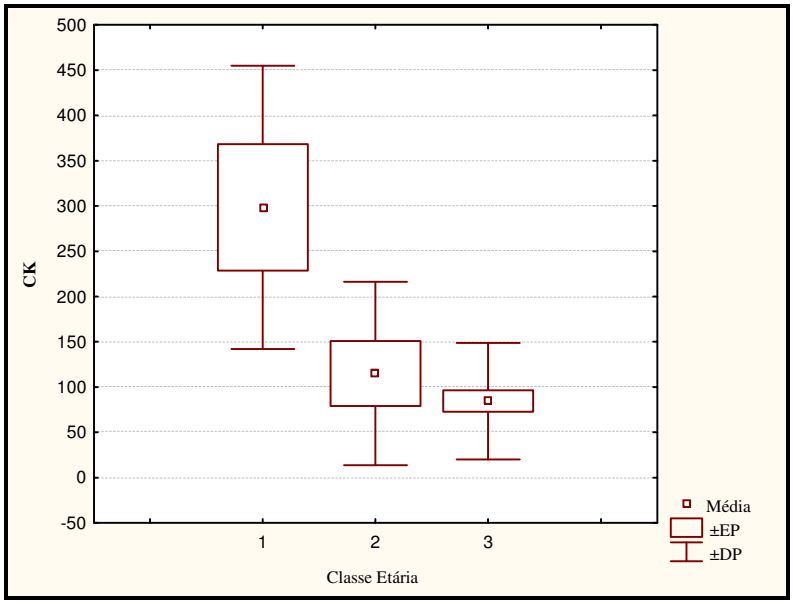

Figura 27 - Média, erro padrão da média (EP) e desvio-padrão (DP) dos valores da atividade sérica de CK de filhotes (1), juvenis (2) e adultos (3).

As diferenças da atividade enzimática de CK entre as classes etárias não são mais significativas quando são separadas entre machos e fêmeas (H= 8,65; p= 0,12). Os valores médios, desvio-padrão, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico da atividade de CK de filhotes machos e fêmeas, juvenis machos e fêmeas e adultos machos e fêmeas estão na tabela 46.

Tabela 46 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança da atividade de CK de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas.

		CK (UI/L)				
Sexo	Idade	N	Média	DP	- 95%	+ 95%
Machos	Filhotes	03	312	86	160	710
	Juvenis	04	96	69	104	262
	Adultos	08	87	11	91	164
Fêmeas	Filhotes	02	278	1628	212	2184
	Juvenis	04	134	42	110	309
	Adultos	22	83	59	54	107

N = número de animais

3.2.2.10 Colesterol

As variâncias mostraram-se homocedásticas na comparação dos níveis séricos de colesterol entre as classes etárias. Empregou-se o teste paramétrico ANOVA de uma via e, apesar da média mais elevada dos filhotes, não foi observada diferença significativa (F= 2,05; p= 0,13) entre as classes etárias. As médias, desvio-padrão, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico dos níveis séricos de colesterol de filhotes, juvenis e adultos estão na tabela 47.

Tabela 47 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) dos níveis séricos de colesterol das classes etárias.

	Colesterol (mg/dl)						
Classe Etária	N	Média	DP	-95%	+ 95%	Mediana	IQ
Filhotes	08	326	206	154	498	234	167- 541
Juvenis	09	232	56	190	276	224	204 - 242
Adultos	63	344	156	305	383	293	242 - 406

N = número de animais

Quando filhotes, juvenis e adultos são separados entre machos e fêmeas, também não se observa diferença significativa dos níveis de colesterol entre as classes (F= 1,70; p= 0,17). A tabela 48 mostra as médias, desvio-padrão, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico dos níveis de colesterol de filhotes fêmeas e machos, juvenis fêmeas e machos, e adultos fêmeas e machos.

Tabela 48 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança dos níveis séricos de colesterol de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas.

		Colesterol (mg/dl)				
Sexo	Idade	N	Média	DP	- 95%	+ 95%
Machos	Filhotes	05	336	47	233	626
	Juvenis	03	201	104	39	298
	Adultos	26	313	270	107	356
Fêmeas	Filhotes	03	310	-181	198	801
	Juvenis	06	248	186	59	310
	Adultos	37	366	306	182	427

N = número de animais

3.2.2.11 Creatinina

As variâncias mostraram-se homocedásticas na comparação dos níveis séricos de creatinina entre as classes etárias. Através do teste estatístico ANOVA de uma via observou-se que não há diferença significativa dos níveis séricos de creatinina entre filhotes, juvenis e adultos, e pode-se notar que os filhotes apresentaram os valores mais baixos, seguidos dos juvenis e adultos (Tabela 49).

Tabela 49 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) dos níveis séricos de creatinina das classes etárias.

	Creatinina (mg/dl)						
Classe Etária	N	Média	DP	-95%	+ 95%	Mediana	IQ
Filhotes	08	1,7	0,4	1,1	2,3	2,1	1,7 - 2,5
Juvenis	10	1,8	0,3	1,1	2,6	1,7	1,5 - 1,9
Adultos	63	1,9	0,3	1,7	2,0	2,0	1,8 - 2,4

N = número de animais

Também não ocorreu diferença significativa dos níveis séricos de creatinina entre as classes etárias quando separadas entre machos e fêmeas (F= 1,95; p= 0,11). Na tabela 50 pode-se observar as médias, desvio-padrão e intervalo de confiança dos níveis séricos de creatinina das classes etárias divididas entre machos e fêmeas.

Tabela 50 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) dos níveis séricos de creatinina de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas.

Creatinina (mg/dl)						
Sexo	Idade	N	Média	DP	- 95%	+ 95%
Machos	Filhotes	05	2,1	1,3	0,6	2,8
	Juvenis	04	1,8	1,2	0,4	2,4
	Adultos	26	2,1	2,0	0,4	2,
Fêmeas	Filhotes	03	2,2	0,8	0,5	3,5
	Juvenis	06	1,7	1,4	0,3	1,9
	Adultos	37	2,0	1,9	0,4	2,2

N = número de animais

3.2.2.12 Desidrogenase lática (DHL)

A atividade sérica de DHL de filhotes, juvenis e adultos foi comparada através do teste ANOVA de uma via já que as variâncias apresentaram-se homocedásticas. Não foram observadas diferenças significativas entre as classes etárias (F= 1,55; P= 0,23). A tabela 51 mostra as médias, desvio-padrão, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico de filhotes, juvenis e adultos.

Tabela 51 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) da atividade sérica de DHL das classes etárias.

DHL (UI/L)							
Classe Etária	N	Média	DP	-95%	+ 95%	Mediana	IQ
Filhotes	08	680	265	259	1101	789	551 - 831
Juvenis	10	327	89	105	548	512	307 - 688
Adultos	61	506	217	420	592	483	388 - 690

N = número de animais

O teste não paramétrico Kruskal-Wallis foi utilizado na comparação das classes etárias separadas entre machos e fêmeas. Também não houve diferença significativa entre filhotes fêmeas, filhotes machos, juvenis fêmeas, juvenis machos, adultos fêmeas e adultos machos (H= 11,02; p= 0,05)(Tabela 52).

Tabela 52 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança de filhotes, da atividade sérica de DHL de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas.

		DHL (UI/L)				
Sexo	Idade	N	Média	DP	- 95%	+ 95%
Machos	Filhotes	05	796	708	71	885
	Juvenis	04	412	197	135	628
	Adultos	26	491	405	213	577
Fêmeas	Filhotes	03	514	-228	299	1256
	Juvenis	06	636	326	296	946
	Adultos	35	575	501	216	649

N = número de animais

3.2.2.13 Fosfatase Alcalina

As variâncias não foram homocedásticas na comparação da atividade sérica entre as classes etárias, portanto empregou-se o teste estatístico Kruskal-Wallis. Os filhotes apresentaram valores médios da atividade sérica de fosfatase alcalina marcadamente e estatisticamente mais elevados que juvenis e adultos (H= 31,46; p= 0,00) (figura 28). A tabela 53 mostra os valores médios, desvio-padrão, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico da atividade de fosfatase alcalina de filhotes, juvenis e adultos.

Tabela 53 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) da atividade sérica de fosfatase alcalina das classes etárias.

	Fosfatase Alcalina (UI/L)						
Classe Etária	N	Média	DP	-95%	+ 95%	Mediana	IQ
Filhotes	08	240	100	**156**	**323,02**	227	146 - 322
Juvenis	09	127	13	**118**	**137,38**	132	118 - 138
Adultos	62	80	31	**73**	**88,17**	78	53 - 104

N = número de animais

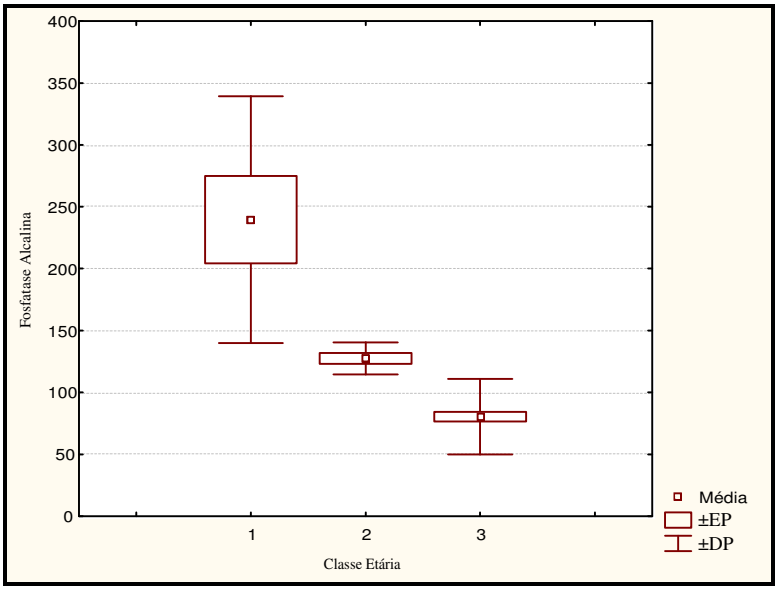

Figura 28 - Média, erro padrão da média (EP) e desvio-padrão (DP) da atividade enzimática de fosfatase alcalina de filhotes (1), juvenis (2) e adultos (3).

Filhotes fêmeas e filhotes machos apresentaram médias estatisticamente mais elevadas da atividade sérica de fosfatase alcalina que juvenis fêmeas e machos, e adultos fêmeas e machos (H= 34,64; p= 0,00) (tabela 54).

Tabela 54 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) da atividade sérica de fosfatase alcalina de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas.

		Fosfatase Alcalina (UI/L)				
Sexo	Idade	N	Média	DP	- 95%	+ 95%
Machos	Filhotes	05	213	123	**72**	**302**
	Juvenis	03	140	132	**3**	**147**
	Adultos	25	85	72	**32**	**98**
Fêmeas	Filhotes	03	284	-63	**140**	**632**
	Juvenis	06	121	109	**11**	**133**
	Adultos	36	76	66	**30**	**87**

N = número de animais

Juvenis fêmeas e juvenis machos apresentaram valores intermediários da atividade sérica de fosfatase alcalina seguidos dos adultos fêmeas e adultos machos (figura 29).

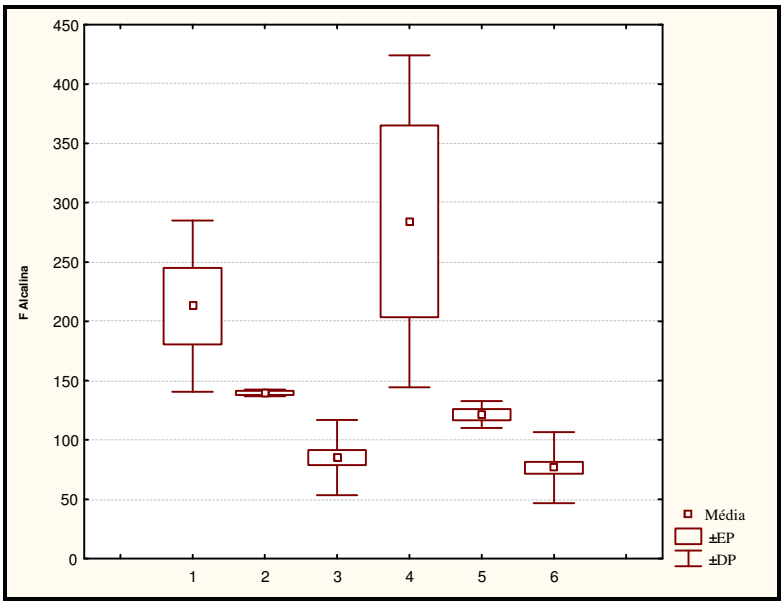

Figura 29 - Média, erro padrão da média (EP) e desvio-padrão (DP) da atividade sérica de fosfatase alcalina de filhotes machos (1), juvenis machos (2), adultos machos (3), filhotes fêmeas (4), juvenis fêmeas (5) e adultos fêmeas (6).

3.2.2.14 Ferro

Através do teste ANOVA de uma via (as variâncias foram homocedásticas) notou-se que os níveis séricos de ferro não diferem entre filhotes, juvenis e adultos (F= 0,50, p= 0,61). As médias dos níveis de ferro de filhotes e juvenis foram praticamente iguais, enquanto os adultos mostraram médias discretamente mais elevadas (tabela 55).

Tabela 55 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) dos níveis séricos de ferro das classes etárias.

	Ferro (µg/dl)						
Classe Etária	N	Média	DP	-95%	+ 95%	Mediana	IQ
Filhotes	04	145	83	14	276	158	89 - 200
Juvenis	04	146	70	28	320	108	59 - 178
Adultos	28	153	76	123	182	144	103 - 190

N = número de animais

Também não se observou diferença dos níveis de ferro entre as classes etárias quando se separou machos de fêmeas (F= 0,03; p= 0,99). As médias, desvio-padrão, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico dos níveis de ferro das classes estão na tabela 56.

Tabela 56 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) dos níveis séricos de ferro de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas.

			Ferro (µg/dl)			
Sexo	Idade	N	Média	DP	- 95%	+ 95%
Machos	Filhotes	02	158	0,0	18	317
	Juvenis	02	150	-733	98	1034
	Adultos	08	153	111	50	194,98
Fêmeas	Filhotes	02	131	-1120	139	1383
	Juvenis	02	87	-536	69	710
	Adultos	20	151	113	83	191

N = número de animais

3.2.2.15 Gama glutamil transferase (GGT)

As variâncias mostraram-se homocedásticas na comparação da atividade sérica de GGT entre as classes etárias, e o teste ANOVA de uma via foi empregado. Observou-se que os adultos têm atividade sérica de GGT média um pouco mais elevada que filhotes e juvenis, entretanto não há uma diferença significativa estatisticamente (F= 0,13; p= 0,88). As médias, desvio-padrão, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico das atividades de GGT das classes etárias estão na tabela 57.

Tabela 57 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) da atividade sérica de GGT das classes etárias.

			GGT (UI/L)				
Classe Etária	N	Média	DP	-95%	+ 95%	Mediana	IQ
Filhotes	07	19	2	15	23	21	19 - 24
Juvenis	08	19	2	14	25	19	18 - 21
Adultos	57	21	8	18	25	19	16 - 24

N = número de animais

Também não se observa diferença significativa da atividade sérica de GGT entre as classes etárias quando separadas entre machos e fêmeas (F=0,38; p= 0,85). As médias, desvio-padrão, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico da atividade de GGT das classes podem ser observadas na tabela 58.

Tabela 58 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) da atividade sérica de GGT de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas.

		GGT (UI/L)				
Sexo	Idade	N	Média	DP	- 95%	+ 95%
Machos	Filhotes	04	21	18	2	25
	Juvenis	03	19	11	3	26
	Adultos	23	20	18	5	22
Fêmeas	Filhotes	03	25	-8	14	59
	Juvenis	05	20	18	2	22
	Adultos	34	21	19	8	24

N = número de animais

3.2.2.16 Glicose

O teste estatístico empregado na comparação entre as classes etárias para os níveis de glicose foi o Kruskal-Wallis, já que as variâncias não foram homocedásticas. Os níveis séricos de glicose entre filhotes, juvenis e adultos não diferiram entre si (H= 4,72; p= 0,09), e as médias, desvio-padrão, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico estão na tabela 59.

Tabela 59 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) dos níveis séricos de glicose das classes etárias.

	Glicose (mg/dl)						
Classe Etária	N	Média	DP	-95%	+ 95%	Mediana	IQ
Filhotes	07	182	107	83	281	130	122 - 238
Juvenis	09	140	21	124	157	143	138 - 154

N = número de animais

As variâncias foram homocedásticas na comparação dos níveis de glicose entre as classes etárias quando separadas entre machos e fêmeas, e o teste estatístico ANOVA foi utilizado. Também não diferiram entre si os níveis de glicose (F= 0,78; p= 0,57) (Tabela 60).

Tabela 60 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança dos níveis de glicose de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas.

		Glicose (mg/dl)				
Sexo	Idade	N	Média	DP	- 95%	+ 95%
Machos	Filhotes	04	200	-16	136	417
	Juvenis	03	152	124	11	180
	Adultos	26	179	153	64	205
Fêmeas	Filhotes	03	158	-18	71	333
	Juvenis	06	135	110	24	160
	Adultos	35	195	168	78	221

N = número de animais

3.2.2.17 Magnésio

As variâncias mostraram-se homocedásticas na comparação dos níveis séricos de magnésio entre filhotes, juvenis e adultos e utilizou-se o teste estatístico ANOVA de uma via. Não foram observadas diferenças significativas entre as classes etárias (F= 0,06; p= 0,94) e os valores médios, desvio-padrão, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico dos níveis de magnésio podem ser observados na tabela 61.

Tabela 61 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) dos níveis séricos de magnésio das classes etárias.

	Magnésio (mg/dl)						
Classe Etária	N	Média	DP	-95%	+ 95%	Mediana	IQ
Filhotes	08	3,2	1,1	1,5	4,9	3,8	2,90- 6,6
Juvenis	10	4,7	1,6	0,7	8,7	4,2	2,9 - 6,4
Adultos	61	3,5	1,9	2,7	4,3	4,7	2,4 - 6,4

N = número de animais

Os valores médios dos níveis de magnésio no plasma das classes etárias quando separadas entre machos e fêmeas foram bastante semelhantes entre si e não houve diferença significativa (F= 0,31; p= 0,90). A tabela 62 mostra as médias, desvio-padrão, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico dos níveis de magnésio de todas as classes.

Tabela 62 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) dos níveis séricos de magnésio de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas.

Magnésio (mg/dl)						
Sexo	Idade	N	Média	DP	- 95%	+ 95%
Machos	Filhotes	05	4,8	2,4	1,9	7,1
	Juvenis	04	4,6	1,0	2,2	8,2
	Adultos	26	4,8	3,9	2,2	5,7
Fêmeas	Filhotes	03	4,6	-4,1	3,5	13,3
	Juvenis	03	4,6	-4,1	3,5	13,3
	Adultos	35	4,2	3,3	2,3	4,9

N = número de animais

3.2.2.18 Proteínas Totais

Através do teste ANOVA de uma via (as variâncias foram homocedásticas), observou-se que não há diferença significativa entre os níveis de proteínas totais do soro de filhotes, juvenis e adultos. A tabela 63 mostra valores médios, desvio-padrão, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico dos níveis séricos de proteínas totais das classes etárias.

Tabela 63 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) dos níveis séricos de proteínas totais das classes etárias.

Proteínas Totais (g/dl)							
Classe Etária	N	Média	DP	-95%	+ 95%	Mediana	IQ
Filhotes	08	8,8	1,1	7,0	10,5	10,4	8,9 - 15,9
Juvenis	10	8,6	2,3	2,9	14,29	9,4	8,8 - 11,0
Adultos	63	9,2	1,8	8,5	9,90	10,2	8,0 - 12,0

N = número de animais

Na comparação dos níveis séricos de proteínas totais entre filhotes fêmeas, filhotes machos, juvenis fêmeas, juvenis machos, adultos fêmeas e adultos machos também não ocorreram diferenças significativas (F= 0,48; p= 0,78) (tabela 64).

Tabela 64 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) dos níveis séricos de proteínas totais de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas.

Proteínas Totais (g/dl)						
Sexo	Idade	N	Média	DP	- 95%	+ 95%
Machos	Filhotes	04	21,5	18,2	2,1	24,8
	Juvenis	03	18,7	11,1	3,1	26,3
	Adultos	23	20,1	17,9	5,0	22,2
Fêmeas	Filhotes	03	25,3	-8,6	13,6	59,2
	Juvenis	05	20,0	17,7	1,9	22,3
	Adultos	34	21,4	18,6	8,1	24,3

N = número de animais

3.2.2.19 Triglicérides

As variâncias não foram homocedásticas na comparação entre as classes etárias, portanto empregou-se o teste estatístico Kruskal-Wallis. Os níveis séricos de triglicérides não diferiram entre filhotes, juvenis e adultos. A tabela 65 mostra a média, desvio-padrão, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico dos níveis de triglicérides das classes etárias.

Tabela 65 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) dos níveis de triglicérides das classes etárias.

Triglicérides (mg/dl)							
Classe Etária	N	Média	DP	-95%	+ 95%	Mediana	IQ
Filhotes	08	157	134	46	269	74	56 - 300
Juvenis	09	87	25	68	107	98	69 - 107
Adultos	63	121	82	101	142	98	61 - 140

N = número de animais

Quando separados entre fêmeas e machos, as variâncias dos níveis de triglicérides das classes etárias foram homocedásticas e aplicou-se o teste estatístico ANOVA de uma via. Não ocorreu diferença significativa dos níveis de triglicérides entre filhotes fêmeas, filhotes machos, juvenis fêmeas, juvenis machos, adultos fêmeas e adultos machos (F= 0,47; p= 0,79) (Tabela 66).

Tabela 66 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) dos níveis de triglicérides de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas.

		Triglicérides (mg/dl)				
Sexo	Idade	N	Média	DP	- 95%	+ 95%
Machos	Filhotes	05	175	-6	145	355
	Juvenis	03	91	40	21	142
	Adultos	26	120	95	62	145
Fêmeas	Filhotes	03	128	-207	135	463
	Juvenis	06	85	55	29	115
	Adultos	37	122	91	94	154

N = número de animais

3.2.2.20 Uréia

Através do emprego do teste estatístico ANOVA de uma via (variâncias homocedásticas), observou-se que os níveis de uréia no soro dos juvenis foram significativamente mais baixos que os níveis de uréia no soro de filhotes e adultos (F= 3,65; p= 0,03) (Figura 30). As médias, desvio-padrão, intervalo de confiança, mediana e intervalo interqualítico dos níveis séricos de uréia de filhotes, juvenis e adultos estão na tabela 67.

Tabela 67 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (-95% e +95%), mediana e intervalo interqualítico (IQ) dos níveis séricos de uréia das classes etárias.

	Uréia (mg/dl)						
Classe Etária	N	Média	DP	-95%	+ 95%	Mediana	IQ
Filhotes	08	118	74	**57**	**180**	86	74 - 158
Juvenis	09	81	21	**65**	**98**	82	77 - 89
Adultos	63	126	45	**115**	**138**	113	96 - 152

N = número de animais

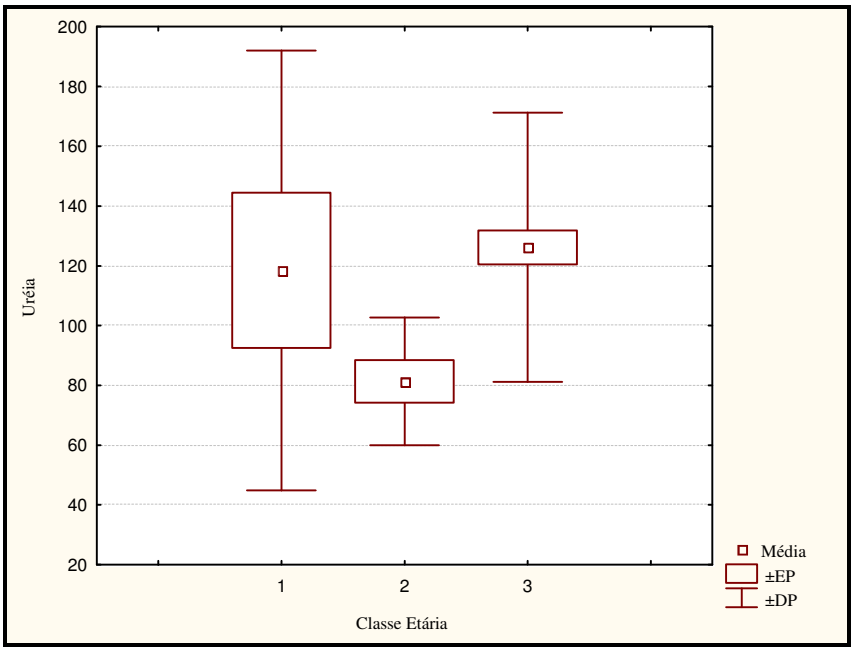

Figura 30 - Média, erro padrão da média (EP) e desvio-padrão (DP) dos níveis séricos de uréia de filhotes (1), juvenis (2) e adultos (3).

Agrupando-se as classes etárias por sexo já não se observa mais diferença dos níveis de uréia entre as classes (F= 1,44; p= 0,24). A média, desvio-padrão e intervalo de confiança dos níveis de uréia dos filhotes machos, filhotes fêmeas, juvenis machos, juvenis fêmeas e adultos machos e adultos fêmeas estão demonstrados na tabela 68.

Tabela 68 – Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) dos níveis séricos de uréia de filhotes, juvenis e adultos separados entre machos e fêmeas.

		Uréia (mg/dl)				
Sexo	Idade	N	Média	DP	- 95%	+ 95%
Machos	Filhotes	05	139	28	89	250
	Juvenis	03	92	43	20	142
	Adultos	26	121	105	40	137
Fêmeas	Filhotes	03	84	65	7	102
	Juvenis	06	76	53	21	98
	Adultos	36	131	114	49	148

N = número de animais

3.2.3 COMPARAÇÃO ENTRE FÊMEAS PRENHES E VAZIAS

As variâncias foram homocedásticas na comparação entre fêmeas prenhes e vazias, e o teste estatístico empregado foi o teste *t* de Student. As fêmeas prenhes apresentaram

valores significativamente mais altos que as vazias nos níveis séricos de albumina, colesterol, triglicérides, uréia e atividade sérica de amilase (tabela 69).

Tabela 69 - Média, desvio-padrão e intervalo de confiança (-95% e +95%) de fêmeas prenhes e vazias.

	Vazias					Prenhes							
	N	Média	DP	-95%	+95%	N	Média	DP	-95%	+95%	F	t-	p
Albumina	**22**	**2,7**	**0,8**	**2,3**	**3,1**	**10**	**4,8**	**2,2**	**3,2**	**6,3**	**7,13**	**4,02**	**0,00**
ALT	21	41	50	18	63	8	69	56	22	115	1,27	1,31	0,20
Amilase	**24**	**91**	**69**	**62**	**120**	**10**	**197**	**147**	**92**	**302**	**4,49**	**2,89**	**0,01**
AST	23	139	42	121	157	8	150	55	104	196	1,72	0,59	0,56
B Direta	23	0,5	0,4	0,3	0,6	9	0,3	0,2	0,2	0,5	4,48	-0,84	0,41
B Indireta	23	0,4	0,5	0,2	0,6	9	0,2	0,1	0,1	0,3	24,03	-1,28	0,21
B total	22	0,8	0,6	0,5	1,0	10	1,0	1,4	0,0	1,9	5,04	0,59	0,56
Cálcio	17	15,8	4,2	13,7	17,9	4	14,0	3,4	8,6	19,4	1,52	-0,80	0,43
CK	18	85	59	56	114	3	103	70	-70	275	1,39	0,48	0,63
Colesterol	**22**	**285**	**76**	**251**	**319**	**10**	**452**	**246**	**276**	**628**	**10,37**	**2,94**	**0,01**
Creatinina	24	2,0	0,4	1,8	2,1	10	2,1	0,5	1,8	2,5	1,55	1,04	0,31
DHL	24	592	248	488	697	10	678	268	487	870	1,17	0,90	0,38
F Alcalina	24	72	28	60	84	10	84	31	62	107	1,23	1,14	0,26
GGT	22	21	6	18	24	8	19	6	14	24	1,03	-0,73	0,47
Glicose	24	189	69	160	218	10	251	159	137	364	5,23	1,58	0,12
Magnésio	24	4,0	2,3	3,0	5,0	8	4,9	2,4	2,9	6,9	1,04	0,94	0,35
P Total	24	10,4	2,6	9,3	11,5	10	12,2	3,9	9,4	15,0	2,18	1,61	0,12
Triglicérides	**22**	**91**	**50**	**70**	**113**	**10**	**159**	**108**	**81**	**236**	**4,73**	**2,43**	**0,02**
Uréia	**22**	**118**	**24**	**107**	**129**	**10**	**163**	**62**	**119**	**207**	**6,42**	**2,97**	**0,01**

N = número de animais
Células na cor azul – Diferença significativa ($p<0,05$) entre os níveis séricos dos elementos bioquímicos de fêmeas vazias e prenhes.

3.2.4 CONGELAMENTO DO SORO

O congelamento do soro a –80°C por 60 dias provocou mudanças significativas ($p<0,05$) em 13 dos 19 elementos analisados (Tabela 70). O teste *t* de Student foi utilizado na comparação dos níveis séricos de bilirrubina direta, creatinina, DHL, e atividade sérica de GGT, já que suas variâncias mostraram-se homocedásticas ($p>0,05$).

As variâncias não foram homocedásticas nos valores de albumina, bilirrubina indireta, bilirrubina total, cálcio, colesterol, ferro glicose, magnésio, proteínas totais,

triglicérides, uréia, atividades séricas de ALT, amilase, AST, fosfatase alcalina e o teste de Kruskall-Wallis foi empregado.

O lote analisado primeiro (lote 1) apresentou maiores valores de albumina (Z= 1,96; p= 0,04), atividade sérica de ALT (Z= 2,03; p= 0,04), atividade sérica de AST (Z= 4,19; p= 0,00), cálcio(Z= 5,16; p= 0,00), colesterol (Z= 4,66; p= 0,00), atividade sérica de fosfatase alcalina (Z= 3,21; p= 0,00), ferro (Z= 1,95;p= 0,04), glicose (Z= 6,25; p= 0,00), magnésio (Z= 5,35; p= 0,00) e uréia (Z= 3,61;p= 0,00). Já os valores de bilirrubina indireta (Z= 2,83; p= 0,00), bilirrubina total (Z= 3,18;p= 0,00) e atividade sérica de GGT (t=-2,34;p= 0,02) foram maiores no lote 02.

Não apresentaram diferenças significativas entres os dois lotes a atividade sérica de amilase (Z= 1,76; p= 0,07), bilirrubina direta, creatinina (t=1,22; p= 0,23), atividade sérica de DHL, proteínas totais (Z= 0,14; p= 0,88) e triglicérides (Z= 0,95; p= 0,34).

Tabela 70 – Média e desvio-padrão dos lotes 01 e 02.

	Lote 01			Lote 02		
	N	Média	DP	N	Média	DP
Albumina	81	**3,4**	1,7	60	**2,6**	0,3
ALT	79	**122**	173	07	**4**	3
Amilase	81	93	85	60	67	23
AST	81	**196**	180	57	**107**	39
B Direta	81	0,5	0,4	60	0,5	0,5
B Indireta	81	**0,4**	0,6	59	**0,7**	1,0
B total	81	**0,9**	0,9	60	**1,2**	1,5
Cálcio	53	**15,2**	4,4	57	**9,1**	1,4
Colesterol	81	**332**	157	61	**245**	57
Creatinina	81	2,0	0,4	60	2,0	0,4
DHL	81	571	242	57	634	208
F Alcalina	81	**104**	64	61	**78**	44
Ferro	36	**148**	74	21	**70**	24
GGT	78	**23**	12	61	**30**	17
Glicose	81	**194**	101	61	**115**	42
Magnésio	79	**4,5**	2,2	59	**2,3**	0,8
P Total	81	10,4	2,9	61	12,8	8,5
Triglicérides	81	122	85	59	106	39
Uréia	81	**121**	48	46	**103**	29

N = número de animais
Células em vermelho – Valor significativamente (p<0,05) mais baixo dos elementos bioquímicos no lote 02
Células em amarelo – Valor significativamente (p<0,05) mais elevado dos elementos bioquímicos no lote 02

3.3 FREQÜÊNCIA CARDÍACA E RESPIRATÓRIA

Os botos vermelhos aparentemente mais estressados apresentaram maiores freqüências cardíacas e respiratórias. A freqüência cardíaca foi medida em 26 botos por um período mínimo de um minuto durante o tempo em que estiveram fora da água para a colheita de material. Em todos os animais percebeu-se uma arritmia cardíaca. A freqüência cardíaca aumentava logo após as inspirações e diminuía até a próxima inspiração, ou até ficar estabilizada em um ritmo basal. A tabela 71 mostra os valores mínimos e máximos das freqüências cardíacas registradas para cada classe etária.

Tabela 71 – Freqüências cardíacas máximas e mínimas de filhotes, juvenis e adultos no intervalo de um minuto.

Freqüência Cardíaca/min		
Classe Etária	**Mínima**	**Máxima**
Filhotes (2)	78	127
Juvenis (3)	88	110
Adultos (21)	60	113

Valor de "n" entre parênteses

Encontrou-se uma correlação positiva entre os valores da contagem total de leucócitos de todos os botos (n= 109) e a freqüência cardíaca dos 26 botos (r= 0,46). Porém, se levados em consideração apenas os botos em que se obteve a freqüência cardíaca, esta correlação não é mais observada (r= 0,42).

A freqüência cardíaca também apresentou correlação com os níveis séricos de amilase e glicose quando todos os valores são incluídos (r= 0,94 e r= 0,97 respectivamente). Esta correlação não mais ocorre quando apenas os valores séricos de amilase e glicose dos 26 botos em questão são incluídos na análise (r= -0,10 e r= -0,11 respectivamente).

A freqüência respiratória de 33 botos foi medida durante pelo menos um minuto no período em que os animais estiveram fora da água. As freqüências mínimas e máximas por minuto de cada classe etária podem ser observadas na tabela 72.

Tabela 72 – Freqüências respiratórias máximas e mínimas de filhotes, juvenis e adultos no intervalo de um minuto.

Freqüência Respiratória/min		
Classe Etária	**Mínima**	**Máxima**
Filhotes (3)	8	14
Juvenis (3)	3	18
Adultos (27)	3	18

Valor de "n" entre parênteses

Da mesma forma que ocorreu com a correlação entre freqüência cardíaca e o número de leucócitos de todos os botos, observou-se uma correlação entre a freqüência respiratória e o número de leucócitos (r= 0,59). Porém, ao contrário da freqüência cardíaca, esta correlação manteve-se presente quando apenas o número total de leucócitos circulantes dos 33 botos em que se obteve a freqüência respiratória foram considerados (r=0,47) (figura 31).

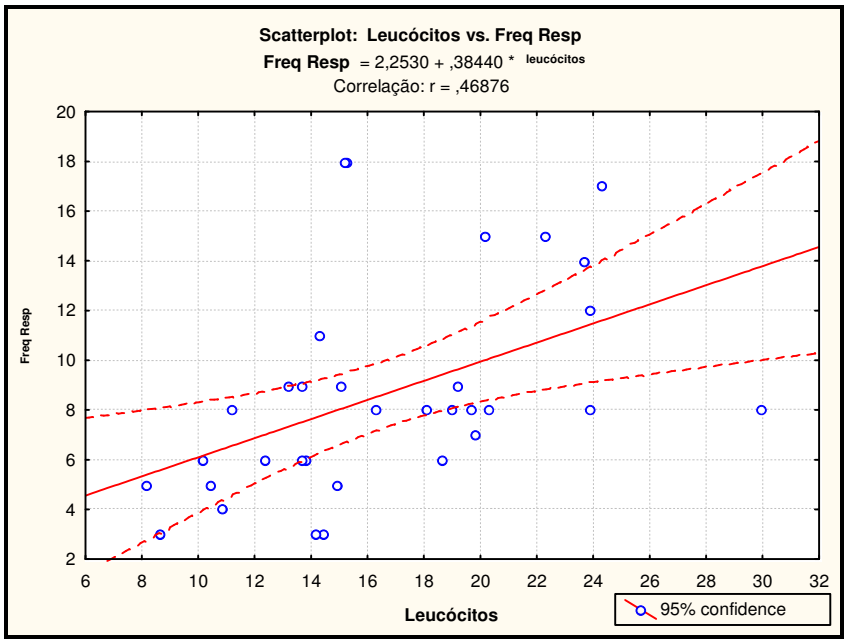

Figura 31 – Correlação entre leucócitos e freqüência respiratória de 33 botos.

Uma correlação positiva também ocorreu entre os níveis séricos de triglicérides e a freqüência respiratória quando todos os botos são incluídos na análise (r= -0,81). Quando apenas os 33 botos em que se obteve a freqüência respiratória são considerados, a correlação positiva não é mais observada (r= -0,00).

4. DISCUSSÃO

4.1 ANÁLISE HEMATOLÓGICA

A hematologia é o estudo dos elementos celulares do sangue e dos fatores de coagulação associados e pode ser estendida para incluir a citologia de líquidos não sangüíneos tais como o líquido cefalorraquidiano (Kerr, 2003).

Apesar do dimorfismo sexual exibido pelo boto vermelho (*Inia geoffrensis*) na sua fase adulta (Martin e da Silva, 2006), nesse estudo, verificou-se que os botos apresentam diferenças entre os parâmetros hematológicos de fêmeas e machos apenas na concentração hemoglobínica corpuscular média (CHCM).

4.1.1 Hematócrito

O hematócrito é uma mensuração da fração do volume sangüíneo que é ocupada pelos eritrócitos e pode ser expresso em porcentagem ou como fração decimal (Kerr, 2003). Segundo Ridgway (1972), os cetáceos estão constantemente submetidos a situações de anóxia durante mergulhos, e uma das adaptações fisiológicas desenvolvidas para maior aproveitamento do oxigênio, foi o aumento do volume de eritrócitos que reflete no aumento dos valores do hematócrito.

Asper *et al*. (1990) notou que golfinhos nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*) que habitam alto mar possuem maior valor do hematócrito quando comparados com espécies que vivem próximos da costa. O valor médio do hematócrito encontrado por Ridgway *et al*. (1970) para 24 *Inia geoffrensis* foi de 41%. Apesar de mantidos em cativeiro, menos de seis meses e indo a óbito, esses botos apresentaram valores de hematócrito um pouco mais elevados do que os botos de vida livre encontrado no presente estudo (40%). Isto pode ser influenciado pelo curto período que esses animais foram mantidos em cativeiro onde o organismo provavelmente não teve tempo suficiente para realizar os ajustes fisiológicos.

Valores de hematócrito (Hct) estatisticamente diferentes entre machos e fêmeas foram observados em uma população de golfinhos-nariz-de-garrafa de vida livre da Flórida (Goldstein *et al.* 2006). Já os valores do hematócrito do boto vermelho mostraram-se bastante uniformes e não houve diferenças significativas entre animais machos e fêmeas (40% e 40%, respectivamente). Diferentemente do que ocorre com elefantes marinhos, que

desenvolvem mecanismos para realização de mergulhos nos primeiros dias de vida (incluindo o aumento de hematócrito), com diferenças entre animais recém-nascidos e animais adultos, não houve diferença dos valores de Hct entre filhotes, juvenis e adultos (40%; 40%; e 39%) de boto vermelho. Goldstein *et al*. (2006) observaram que fêmeas adultas prenhes e vazias de *Tursiops truncatus* apresentam valores semelhantes de hematócrito. Da mesma forma, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre fêmeas prenhes e vazias de boto vermelho (39% e 40%, respectivamente).

4.1.2 Contagem de hemácias

As hemácias são responsáveis pelo transporte de oxigênio dos pulmões para todos os tecidos do corpo (Kerr, 2003). Normalmente a produção e destruição de hemácias são mantidas em equilíbrio de modo que o número total de hemácias permaneça constante.

Quando comparados com mamíferos terrestres, os mamíferos aquáticos apresentam um menor número de hemácias (Lenfant, 1969), embora de maior tamanho (Guerra-Shinohara, 1996). Os índices hematimétricos, volume de sangue e volume do coração são geralmente maiores, refletindo uma maior capacidade de carreamento de oxigênio necessário para um animal mergulhador (Ridgway, 1972). Em mamíferos marinhos recém-nascidos, como *Phoca vitulina* e *Mirounga angustirostris*, a contagem do número de hemácias é maior do que em adultos (Roletto & Dougherty *apud* Bossart *et al*., 2001) Ao contrário, dentro das classes etárias avaliadas do presente estudo, os filhotes de boto vermelho tiveram as médias mais baixas (3,74 x 10^6/mm^3), enquanto juvenis e adultos apresentaram valores mais altos e bastante próximos (3,96 x 10^6/mm^3 e 3,93 10^6/mm^3), embora com variações pequenas entre as classes de idade.

Em golfinhos cativos submetidos a treinamentos em que realizam longos mergulhos, pode haver um aumento do número de hemácias (Ridgway *et al*. 1970). O processo inverso deve ser considerado, Mc Connel & Vaughan (1983) observaram que focas de cativeiro apresentaram valores mais baixos de glóbulos vermelhos do que focas selvagens, provavelmente pela pouca atividade física em função do espaço limitado e pouca profundidade da coluna d'água no tanque. A média encontrada para 24 botos mantidos em cativeiro (Ridgway *et al*. 1970) foi praticamente igual a do presente estudo (3,85 x 10^6/mm^3 e 3,88 x 10^6/mm^3). O fato dos animais estarem em cativeiro a menos de seis meses, e a

conseqüente falta de tempo para uma adaptação fisiológica, pode explicar esta similaridade entre os valores. Entretanto, o fato de que botos de vida livre não realizam mergulhos a grandes profundidades deve ser considerado.

As médias do número de hemácias entre machos e fêmeas de boto vermelho foram bastante similares (3,91 x 10^6/mm^3 e 3,95 x 10^6/mm^3), indicando que não há uma diferença entre os sexos nos valores de hemácias circulantes. No ambiente natural, as fêmeas são encontradas em maior proporção nos habitats mais rasos como canais estreitos e lagos do que machos, que utilizam mais os canais dos rios (Martin & da Silva, 2004), entretanto não apresentaram valores menores do número de hemácias.

4.1.3 Hemoglobina

Em mamíferos, uma molécula de hemoglobina (um tetrâmero) é formada por quatro subunidades (monômeros) compostas de uma cadeia polipeptídica e um grupamento heme (um anel de protombina com um átomo de ferro no centro) (De Monte & Pilleri, 1979). A concentração de hemoglobina na maioria dos mamíferos marinhos está aumentada quando comparados com mamíferos terrestres (Reidarson *et al*., 2000). Ridgway *et al*. (1970) notou que entre as seis espécies de cetáceos em cativeiro estudadas (*Tursiops truncatus*, *Lagenorhynchus obliquidens*, *Phocoenoides dalli*, *Orcinus orca*, *Globicephala scammoni* e *Inia geoffrensis*), as maiores concentrações de hemoglobina ocorreram na espécie com maior capacidade de mergulho (*Phocoenoides dalli*) apesar do seu pequeno tamanho corporal (máximo de 2.2m). Comparando-se a média de *Inia geoffrensis* (15,51 g/dl), uma espécie que vive exclusivamente em rios da Amazônia com no máximo 300 metros de profundidade (Goulding *et al*., 2003), e atinge no máximo 2.55m de comprimento, com baleias belugas (*Delphinapterus leucas*) (21,6 g/dl), uma espécie de odontoceto que atinge o comprimento maximo de 5.5.m, se alimenta no fundo e é capaz de realizar mergulhos de grande profundidade (Martin *et al*., 1998), nota-se uma grande diferença entre os níveis médios de hemoglobina, independentes do tamanho corporal do animal.

De acordo com Koopman *et al*. (1995), as propriedades hematológicas estão relacionadas com o padrão e a profundidade do mergulho de alguns mamíferos marinhos. Focas de cativeiro apresentaram valores mais baixos da concentração de hemoglobina que focas de vida livre provavelmente pela menor atividade física e mergulhos mais superficiais em função da menor profundidade da água (Mc Connel & Vaughan, 1983). O valor médio

de Hb encontrada neste estudo foi superior a média encontrada por Rigdway *et al*. (1970) para 22 botos vermelhos (*Inia geoffrensis*) mantidos em cativeiro (15,51 g/dl e 13,85 g/dl, respectivamente), e confirma a hipótese de que animais da mesma espécie mantidos em cativeiro apresentam níveis menores da concentração de hemoglobina, pois não realizam mergulhos em grandes profundidades em função da limitação do espaço físico.

Ridgway *et al*. (1970) também observou que golfinhos mantidos em alto mar e submetidos a longos mergulhos em processos de treinamentos, também apresentaram um aumento significativo da concentração de hemoglobina. Os níveis de hemoglobina encontrados neste estudo para fêmeas e machos (15,30 g/dl e 15,52 g/dl) foram superiores aos valores encontrados por Ridgway *et al*. (1970) para fêmeas e machos de *Inia geoffrensis* mantidos em cativeiro (13,3 g/dl e 14,4 g/dl respectivamente). St. Aubin *et al*. (2001) observaram que baleias belugas imaturas têm a concentração de hemoglobina mais elevada que belugas adultas (n=61; média= 22,3 g/dl e n=36; média=20,4 g/dl). As concentrações de hemoglobina de adultos e juvenis de boto vermelho foram bastante similares (15,44 g/dl e 15,52 g/dl, respectivamente) e menores do que o único valor encontrado para filhotes da mesma espécie (16,81 g/dl). Segundo Bain (2004), a concentração de hemoglobina é maior em recém-nascidos já que durante as primeiras horas de vida, o volume plasmático diminui e, como conseqüência, a concentração de Hb aumenta apreciavelmente (sobretudo quando o clampeamento foi tardio). O resultado do presente estudo corrobora com os achados de St. Aubin *et al*. (2001) e Bain (2004) e pode ser sugerido que ocorre um ajuste do volume sangüíneo, e conseqüentemente da concentração de Hb, conforme o animal atinge a maturidade física.

4.1.4 Volume Corpuscular Médio (VCM)

O VCM é uma mensuração do tamanho das hemácias, e varia bastante entre as espécies, sendo completamente independente do tamanho do animal (Kerr, 2003). Segundo Nos mamíferos marinhos o tamanho das hemácias é maior que de mamíferos terrestres (Reidarson *et al*. 2000),.

Os mamíferos aquáticos que chegam a maiores profundidades apresentam maiores valores de VCM como uma adaptação fisiológica ao mergulho (Bossart *et al*., 2001). O VCM médio de baleias belugas (*Delphinapterus leucas*) encontrado por St. Aubin *et al*. (2001) foi significativamente mais elevado que o VCM encontrado para o boto vermelho

(162 fL e 104 fL, respectivamente). Segundo Ridgway (1972), o aumento da espessura da hemácia promove uma lenta liberação de oxigênio, que pode ser uma estratégia vantajosa durante os períodos de submersão. O maior VCM encontrado nos botos de vida livre permite mergulhos mais longos, já que a capacidade de armazenamento de Hb pela hemácia é maior, bem como a liberação de oxigênio se torna mais lenta.

St. Aubin *et al*. (2001) observaram em baleias belugas (*Delphinapterus leucas*) da Baía Hudson, Canadá, que fêmeas adultas têm hemácias com maior volume corpuscular médio que machos da mesma espécie (173, 0 fL e 166,8 fL, respectivamente). As fêmeas adultas de boto vermelho também apresentaram média ligeiramente mais elevada que os machos adultos, porém não ocorreu uma diferença estatisticamente significativa entre os sexos (105,01 fL e 103,88 fL).

Segundo Kerr (2003), animais jovens tendem a ter hemácias menores quando comparado aos animais adultos. Paradoxalmente, os neonatos, têm hemácias tão grandes quanto às de animais adultos. No presente estudo, foi observado que os filhotes de boto vermelho apresentaram médias ligeiramente maiores (109 fL), seguidos dos juvenis (104 fL) e adultos (103 fL), no entanto, uma diferença estatisticamente significativa não ocorreu. O VCM é calculado dividindo-se o valor do hematócrito pelo número de hemácias, a média do hematócrito foi praticamente igual entre as classes etárias e o número de hemácias foi um pouco menor nos filhotes, por isso o VCM apresentou-se maior nos filhotes. O motivo deste aumento não está claro, e necessita mais estudos.

4.1.5 Concentração Hemoglobínica Corpuscular Média (CHCM)

A concentração hemoglobínica corpuscular média é uma mensuração obtida aritmeticamente a partir do hematócrito e da concentração total de hemoglobina da amostra. Segundo Kerr (2003), o valor normal da CHCM é de cerca de 35g/dl independente da espécie ou tamanho das hemácias dos animais domésticos, isto é, para qualquer valor de hematócrito fornecido, a quantidade total de hemoglobina por unidade de volume de sangue será a mesma. Entretanto, valores acima de 35g/dl foram muitas vezes reportados para espécies de cetáceos: St. Aubin *et al*. (2001) encontraram uma média de 36,7 g/dl para belugas (*Delphinapterus leucas*); intervalos de 34-36 g/dl em golfinhos nariz-de-garrafa mantidos em cativeiro (*Tursiops truncatus*), 35-37 g/dl em golfinhos de laterais-brancas-do-Pacífico mantidos em cativeiro (*Lagenorhynchus obliquidens*), enquanto que Bossart *et*

al. (2001) encontraram valores entre 34-36 g/dl em baleias piloto (*Globicephala macrorhynchus*) mantidas em cativeiro.

O boto vermelho (*Inia geoffrensis*) apresentou uma média de 40,32 g/dl. Segundo Kerr (2003), um CHCM anormalmente alto não é considerado possível, já que não existe uma hemácia hipercrômica. Entretanto, devido à maneira como o valor calculado é obtido, valores de CHCM acima de 40g/100ml são algumas vezes observados. Há quatro razões possíveis para esse tipo de resultado: amostra de sangue hemolisada; substâncias nterferentes no plasma (por exemplo, plasma lipêmico) podem causar um valor erroneamente alto de hemoglobina; diminuição do tamanho das hemácias causada por pressão osmótica excessiva (um tubo com EDTA preenchido apenas parcialmente); ou erro laboratorial na determinação do hematócrito ou hemoglobina.

Talvez uma lipemia pós-prandial tenha contribuído para que valores mais altos de hemoglobina, e conseqüentemente de CHCM, tenham ocorrido nos botos, já os animais examinados nesse estudo são animais de vida livre e não estavam submetidos a jejum no momento da colheita. Entretanto, quando o valor médio de hemoglobina do boto vermelho é comparado com valores médios de outros golfinhos também de vida livre como, por exemplo, o golfinho nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*) (média = 35 g/dl) e a marsopa (*Phocoena phocoena*) (média = 34,9 g/dl) (Asper *et al*., 1990; Koopman *et al*., 1999), observa-se que o valor da CHCM continua consideravelmente elevada. Este valor mais elevado do boto vermelho pode ser uma característica da espécie, já que todas as análises foram feitas pela autora e verificado que os tubos com EDTA foram completamente preenchidos, e cujos valores mostraram-se constantes durante todo o experimento, descartando a hipótese de erro laboratorial.

A única diferença dos parâmetros hematológicos observados entre machos e fêmeas de boto vermelho foi a concentração hemoglobínica corpuscular média. O valor médio dos machos apresentou-se significativamente mais elevado que o valor médio das fêmeas (37,87 g/dl e 40,72 g/dl, respectivamente), demonstrando uma diferença entre os sexos da CHCM nessa espécie (*Inia geoffrensis*). Segundo Martin & da Silva (2004), existe uma segregação sexual dos botos vermelhos dentro a área da RDS Mamirauá, onde as fêmeas estão concentradas em maior proporção dentro de lagos e canais estreitos mais protegidos, enquanto machos ocorrem predominantemente na calha dos rios maiores. O fato de machos apresentarem maior CHCM corrobora com o fato de que vivem em locais com maior

profundidade e correnteza e provavelmente mergulham por períodos mais longos e alcançam locais mais profundos.

Assim como ocorre com a hemoglobina, St. Aubin *et al*. (2001) observaram que baleias belugas imaturas têm a CHCM mais elevada que belugas adultas (n= 60; média= 37,9 g/dl e n= 36; média= 34,5 g/dl). A comparação entre juvenis e adultos do presente estudo corrobora com o resultado de St Aubin *et al*. (2001), onde juvenis de boto vermelho apresentaram uma média = 41,73 g/dl e os adultos uma média = 39,94 g/dl. Apesar de não ter ocorrido uma diferença estatisticamente significativa, a hipótese de uma adaptação fisiológica ao longo da vida do animal deve ser considerada.

4.1.6 Plaquetas

O número de plaquetas no sangue circulante é constante em animais saudáveis (Schalm *et al*., 1975). Segundo Bossart *et al*. (2001), alguns contadores eletrônicos de células não podem quantificar com exatidão o número de plaquetas em mamíferos marinhos em função da agregação das plaquetas. Portanto, é recomendado que se efetue Eesfregaços de sangue periférico para verificar baixas contagens de plaquetas nestes casos.

O valor médio de plaquetas encontradas para o boto vermelho foi de 297 x $10^3/mm^3$, com um intervalo de confiança (IC) de 276-318 x $10^3/mm^3$. Valores inferiores foram encontrados por Bossart *et al*. (2001) para golfinhos mantidos em cativeiro: dez golfinhos de commerson (*Cephalorhyncus commesonii*) (IC= 120-250 x $10^3/mm^3$); dois golfinhos comuns (*Delphinus delphis* (IC= 55-10 x $10^3/mm^3$); 13 baleias belugas (*Delphinapterus leucas*) (IC= 60-130 x $10^3/mm^3$); e nove golfinhos-de-laterais-brancas do Pacífico (*Lagenorhynchus obliquidens*) (IC= 100-150 x $10^3/mm^3$).

Aproximadamente 1/3 das plaquetas encontra-se estocada no baço, e aparentemente existe um transporte de plaquetas entre o baço e a circulação. Existe um intervalo normal para cada espécie, e valores mais elevados podem ocorrer em casos de necessidade (Schalm *et al*., 1975). O boto vermelho apresenta um intervalo maior do que foi reportado para a maioria das espécies de cetáceos, o que pode ser reflexo do comportamento da espécie. De acordo com Martin & da Silva (2006), os machos têm um comportamento intraespecífico agressivo, principalmente durante a época de reprodução, e o maior número de plaquetas poderia ser uma vantagem para otimizar a hemostasia dos ferimentos. Além disso, pode haver uma menor capacidade do baço em armazenar plaquetas nesta espécie.

4.1.7 Velocidade de Hemossedimentação (VHS)

A velocidade de hemossedimentação é uma medida (em mm) da distância em que os eritrócitos sedimentam em uma suspensão vertical de anticoagulante em determinado tempo. A VHS é um teste não específico que pode ser útil no monitoramento da presença e intensidade da inflamação da maioria das espécies de golfinhos (Bossart *et al*., 2001). Esses autores afirmam que em golfinhos, a magnitude da inflamação é diretamente relacionada à taxa na qual as hemácias sedimentam no tubo (isto é, a VHS aumenta com o aumento da inflamação). Muitas elevações de VHS também estão associadas com o aumento do fibrinogênio no plasma.

A mensuração do VHS depende, em algum grau, da viscosidade do plasma nos processos inflamatórios. Os resultados são extremamente espécie-específicos, e este exame perdeu seu lugar na medicina veterinária de animais domésticos (Kerr, 2003). Entretanto, os resultados encontrados para *Inia geoffrensis* mostraram-se bastante constantes, podendo ser utilizados como importante ferramenta para se alcançar um diagnóstico correto.

Bossart *et al*. (2001) encontraram um intervalo de confiança (IC) da VHS de 16-52 mm/hora para duas baleias-pilotos-de-nadadeira-curta (*Globicephala macrorhynchus*), 3-29 mm/hora para cinco falsas orcas (*Pseudorca crassidens*) ambas mantidas em cativeiro, e uma média de 11mm/hora para 210 golfinhos nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*). O IC da velocidade de hemossedimentação encontrado para o boto vermelho foi de 50-52 mm/hora, com uma média de 51 mm/hora. Observa-se que o intervalo de confiança obtido para animais sadios de boto vermelho é mais estreito que os intervalos de confiança observados para as espécies de odontocetos analisados por Bossart *et al*. 2001, o que indica uma uniformidade entre os valores obtidos, e reforça seu uso como um bom indicador do estado de saúde dos animais.

4.1.8 Contagem Total dos Leucócitos

O termo leucócitos inclui todas as células brancas e suas precursoras. Estas células utilizam a corrente sangüínea como meio de transporte do seu sítio de origem ao local nos tecidos, onde são solicitadas. O número circulante reflete o equilíbrio entre o fornecimento e a demanda (Kerr, 2003).

Segundo Asper *et al*. (1990) animais de vida livre estão mais expostos a estímulos antigênicos e necessitam de uma resposta imunológica mais acentuada, o que resulta em um maior número de leucócitos circulantes do que animais em cativeiro. Comparando-se a média de leucócitos de *Inia geoffrensis* selvagens do presente estudo (17,96 x $10^3/mm^3$) com aquela de *Inia geoffrensis* de cativeiro (13, 38 x $10^3/mm^3$) (Ridgway, 1970) observa-se que o maior valor pertence aos animais selvagens, confirmando a hipótese de Asper *et al*. (1990), de estarem sujeitos a maiores estímulos antigênicos.

Índices de leucócitos mais elevados em animais imaturos podem ser um reflexo do sistema imunológico ainda em desenvolvimento conforme moldam o sistema imunológico a uma ampla variedade de estímulos antigênicos (St Aubin *et al*. 2001).

Cornell (1983) e Asper *et al*. (1990), observaram que animais mais velhos de baleias orcas (*Orcinus orca*) e golfinhos nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*), tendem a apresentar menores valores de leucócitos quando comparados aos mais jovens. Os filhotes de boto vermelho do presente estudo apresentaram as maiores médias para o número de leucócitos, seguidos dos juvenis e adultos (24,84 x $10^3/mm^3$; 17,50 x $10^3/mm^3$ e 17, 20 x $10^3/mm^3$, respectivamente) confirmando um decréscimo dos linfócitos circulantes com o avanço da idade. St Aubin *et al*. (2001) também observaram um número maior de leucócitos em baleia belugas imaturas quando comparadas com adultos (12,1 x $10^3/mm^3$ e 7,4 x $10^3/mm^3$, respectivamente).

4.1.9 Contagem Diferencial dos Leucócitos

Técnicas citoquímicas tradicionais têm demonstrado que a morfologia dos leucócitos, assim como o percentual de cada célula da contagem diferencial da maioria dos cetáceos e sirênios sadios, é similar aos mamíferos terrestres (Bossart *et al*., 2001). Os diferentes tipos celulares de leucócitos de boto vermelho também se mostraram morfologicamente bastante semelhantes aos tipos celulares da maioria dos mamíferos, entretanto, a porcentagem de eosinófilos foi mais elevada do que na maioria de espécies domésticas (Fraser, 1991).

MONÓCITOS

O monócito é a maior célula dentre os leucócitos circulantes. Tem citoplasma azul escuro ou azul-acinzentado, geralmente com grânulos e pode estar vacuolizado. A forma do

núcleo é muito variável, particularmente entre as espécies, mas as formas típicas são as formas de rim, bastão, folha de trevo e trilobulado. Sua principal função é a fagocitose, particularmente de partículas grandes tais como debris celulares e os patógenos mais difíceis tais como fungos, protozoários e *Brucella* spp (Kerr, 2003).

Em mamíferos aquáticos os monócitos são geralmente maiores que os linfócitos, com uma relação de núcleo-citoplasma de ≤1:1. O núcleo é pleomórfico e tem forma de rim ou feijão (Bossart *et al*., 2001). Nesse estudo, a maioria dos monócitos do boto vermelho apresentou núcleo em forma de feijão, entretanto alguns núcleos redondos foram observados.

A monocitose (aumento do número de monócitos) está tradicionalmente relacionada a doenças crônicas, particularmente doenças inflamatórias crônicas. Em geral, na presença de inflamação, infecção, e sepse uma monocitose discreta a moderada acompanha uma neutrofilia (Kerr, 2003). O valor médio da porcentagem de monócitos observados em 72 botos deste estudo (3%) foi o mesmo encontrado por Ridgway *et al*. (1970) para oito botos de cativeiro. Acredita-se que a porcentagem de monócitos não é afetada pelo ambiente, desde que todos os animais estejam em boas condições de saúde. Dessa forma podemos afirmar que os botos da população estudada na RDSM são animais saudáveis e que não apresentam um quadro infeccioso.

LINFÓCITOS

Ao contrário das outras células sangüíneas, os linfócitos desenvolvem-se principalmente fora da medula óssea, nos linfonodos, baço e tecidos linfóides associados ao intestino. No esfregaço seu núcleo aparece geralmente redondo em tons de azul. O citoplasma é muito esparso e azul pálido (Kerr, 2003). Assim como observado por Bossart *et al*., (2001) para a maioria dos mamíferos aquáticos, os linfócitos do boto vermelho apresentam uma relação núcleo-citoplasma elevada e geralmente possuem um núcleo redondo, monomórfico e com a cromatina condensada.

Valores decrescentes de linfócitos conforme a idade são observados em ruminantes, cavalos (Kerr, 2003) e cães (Ridgway, 1972). Já uma linfocitose fisiológica por mobilização das células seqüestradas em leitos capilares colapsados pode ocorrer da mesma maneira que para os neutrófilos e é muito comum em gatos estressados (Kerr, 2003).

A maioria dos linfócitos de mamíferos marinhos reside entre órgãos linfóides (linfonodos, timo, baço e/ou medula óssea) e em baixos números circulantes no sangue (Bossart *et al*., 2001). Medway & Geraci (1964) observaram uma média de 15% de linfócitos em *Tursiops truncatus*, Bogdanova & Lebedev (1973) observaram para a mesma espécie uma média de 21% de linfócitos, 18% em *Delphinus delphis* e 32% em *Phocoena phocoena,* enquanto Ridgway (1970) observou uma porcentagem de linfócitos de 21% em *Inia geoffrensis*, sendo todas essas espécies mantidas em cativeiro. O boto vermelho de vida livre do presente estudo apresentou uma média de linfócitos de 36%, valor consideravelmente mais elevado do que as espécies acima citadas.

No cavalo, o número de linfócitos circulantes diminui com a idade de tal forma que, em cavalos velhos, uma aparente leucopenia é praticamente normal. Asper *et al*. (1990) notaram que golfinhos nariz-de-garrafa mais jovens têm uma porcentagem de linfócitos menor que os adultos (18% e 24%, respectivamente). Os filhotes de boto vermelho, ao contrário, têm uma porcentagem significativamente maior de linfócitos que os adultos (45% e 35%, respectivamente). Os adultos apresentam uma porcentagem maior de eosinófilos que juvenis e filhotes, conseqüentemente a porcentagem das outras células é menor, e a menor proporção de linfócitos pode ser um reflexo da maior porcentagem de eosinófilos. Entretanto, valores absolutos de cada tipo celular devem ser calculados para que se observe alguma alteração real nos valores destas células.

NEUTRÓFILOS

Neutrófilos imaturos (bastonetes), não possuem núcleo lobulado. O aparecimento de uma reentrância no núcleo é suficiente para classificar a célula como adulta. Com o envelhecimento da célula, o núcleo continua a se tornar mais e mais lobulado e núcleos altamente lobulados são característicos de células muito maduras (Kerr, 2003). O citoplasma de neutrófilos normais é azulado em colorações do tipo Leishman, com numerosos grânulos róseos semelhantes a grãos de poeira (Kerr, 2003). O citoplasma dos neutrófilos do boto vermelho corado com Wright apresentou coloração rosa claro e também uma granulação fina. .

Os neutrófilos funcionam primariamente como fagócitos e são particularmente importantes em quadros infecciosos de inflamação. Neutrófilos maduros estão presentes em três compartimentos – o compartimento circulante, o compartimento marginal (incluindo os

neutrófilos seqüestrados nos leitos capilares inativos) e o compartimento da medula óssea (Kerr, 2003).

Uma neutrofilia patológica ocorre em casos de inflamações e doenças infecciosas, apesar de uma neutrofilia fisiológica poder ocorrer com a liberação de corticosteróides e epinefrina durante exercícios e situações de estresse (Kerr, 2003). Os botos selvagens deste estudo tiveram uma porcentagem de neutrófilos menor do que encontrados nos botos mantidos em cativeiro estudados por Ridgway (1970) (48% e 66%, respectivamente). Isto sugere que o estresse crônico sofrido por animais em cativeiro pode levar a um aumento do número de neutrófilos circulantes.

Uma diferença significativa da porcentagem de neutrófilos entre classes etárias foi observada em golfinhos nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*) mantidos em cativeiro, onde adultos apresentaram 67% e jovens 60% (Asper *et al*., 1990). Goldstein *et al*. (2006) também observaram que *Tursiops truncatus* adultos de vida livre têm uma porcentagem maior de neutrófilos que filhotes da mesma população. Apesar de os adultos de boto vermelho apresentarem também valores mais elevados que juvenis e filhotes, não houve diferença estatisticamente significativa entre filhotes, juvenis e adultos (43%; 47%; e 48%, respectivamente).

EOSINÓFILOS

Os eosinófilos são parecidos com neutrófilos, com a presença adicional de grânulos citoplasmáticos vermelhos muito brilhantes e chamativos que parecem preencher toda a célula. Sua principal função é a desintoxicação por inativação de histamina e materiais com toxidade semelhante á histamina. Eles também inibem a produção de edema (estimulada pela serotonina e bradicinina) e por isso são importantes na resposta alérgica, além de serem capazes de fagocitar (Kerr, 2003).

A eosinofilia refere-se ao aumento do número de eosinófilos circulantes. Há uma variação diurna no número de eosinófilos e contagens mais altas podem ser esperadas em amostras colhidas à noite (Kerr, 2003). Segundo Bossart *et al*. (2001), o número elevado de eosinófilos circulantes pode representar um aumento da função bactericida e parasiticida destas células, e a porcentagem destas células é maior nos cetáceos. O valor encontrado para o boto vermelho corrobora com tal afirmação, já que o IC encontrado (4-30%)

representa valores mais elevados do que para espécies de animais domésticos: eqüinos (1-10%); cães (2-10%); bovinos (2-20%) e suínos (0,5-11%) (Fraser, 1991).

Asper *et al*. (1990) afirmam que a maior contribuição para estímulos antigênicos acentuados em golfinhos de vida livre provém de infecções parasitárias maiores. Uma eosinofilia pronunciada ocorre em animais domésticos em resposta a presença de parasitas que migram e invadem tecidos, e estes tipos de parasitas (*Anisakis* sp., *Halocerus* sp., *Nasitrema* sp.) são comuns em golfinhos de vida livre. Animais mantidos em cativeiro vivem em ambientes controlados e geralmente estão sujeitos a programas de controles parasitológicos periódicos. A porcentagem de eosinófilos encontrada por Ridgway *et al*. (1970) para botos vermelhos mantidos em cativeiro foi consideravelmente menor do que a porcentagem encontrada para botos vermelhos selvagens do presente estudo (5% e 13%, respectivamente), o que pode ser um reflexo de uma infecção parasitária maior em botos vermelhos selvagens.

Cornell (1983) observou que adultos de orcas (*Orcinus orca*) apresentam maior porcentagem de eosinófilos que jovens. Os botos adultos do presente estudo apresentaram porcentagens maiores de eosinófilos que os juvenis e filhotes (14%; 11% e 9%, respectivamente), fato que pode ser reflexo de uma carga parasitária maior, já que os animais adultos estão em ambiente natural e sujeitos a infecção parasitária há mais tempo que as outras classes etárias.

A placenta canina contém grande quantidade de eosinófilos e, às vezes, observa-se eosinofilia na circulação associada com a presença de placentas *in útero* (Kerr, 2003). Não foi detectada diferença significativa entre as porcentagens de eosinófilos de fêmeas prenhes e vazias para boto vermelho (15% e 17%, respectivamente), apesar de as fêmeas prenhes terem as médias mais elevadas.

BASÓFILOS

Os basófilos são mais encontrados em algumas espécies do que em outras; por exemplo, eles são comuns no sangue de coelhos e quase sempre encontrados no sangue de cavalos, mas é muito raro observá-los em amostras caninas. Eles têm a função de liberar grânulos de histamina e começar a resposta inflamatória (Kerr, 2003).

Segundo Bossart *apud* Bossart (2001), basófilos são raros em mamíferos aquáticos. Nenhum basófilo foi observado em um estudo com 180 golfinhos nariz-de-garrafa (*tursiops truncatus*) e 56 peixes-bois (*Trichechus manatus latirostris*). O mesmo ocorreu nesse estudo, onde como em outros mamíferos aquáticos, nenhum basófilo foi encontrado na leitura de 72 esfregaços sangüíneos de boto vermelho de diferentes classes etárias.

4.2 ANÁLISE BIOQUÍMICA

A bioquímica clínica envolve a análise de amostras de fluídos corpóreos, principalmente plasma, e os resultados dessas análises são usados para esclarecer o quadro clínico dos animais (Kerr, 2003).

PROTEÍNAS PLASMÁTICAS

O plasma contém uma mistura de proteínas – albuminas, globulinas, enzimas, proteínas específicas de transporte (por exemplo, a transferrina), hormônios protéicos e fatores de coagulação. A maioria dessas proteínas é sintetizada no fígado a partir de aminoácidos e todas possuem funções diferentes e específicas, mas como um grupo, funciona na manutenção osmótica do plasma (Kerr, 2003).

4.2.1 Proteínas Totais

Um aumento da concentração de proteínas totais pode ocorrer em função de uma deficiência relativa de água, doenças inflamatórias crônicas, doenças imunomediadas e paraproteinemias (Kerr, 2003). De Monte & Pilleri (1982) observaram uma média de 7,96 g/dl de proteínas totais e um intervalo fisiológico de 6 a 9 g/dl em cetáceos de cativeiro pertencentes a 13 gêneros incluindo *Inia boliviensis*. Nosso estudo encontrou para *Inia geoffrensis* uma média um pouco mais elevada (10,37 g/dl) do que o intervalo reportado por De Monte e Pilleri (1982), e parece não ter um significado patológico. Entretanto, González e Scheffer (2001) afirmam que a taxa de síntese está diretamente relacionada com o estado nutricional do animal, especialmente com os níveis de proteína e vitamina A. Portanto, não deve ser descartada neste caso, que uma dieta inadequada oferecida aos animais mantidos em cativeiro, possa levar a menores níveis plasmáticos de proteínas totais.

Segundo González e Scheffer (2001), animais velhos tendem a apresentar níveis plasmáticos de proteínas totais mais elevados que jovens. Cornell (1983) observou que

baleias orcas mais jovens estão consistentemente na parte inferior do intervalo normal de proteínas totais encontrado para a espécie. Da mesma forma, os filhotes e juvenis de boto vermelho apresentaram as menores médias, porém sem uma diferença significativa com relação aos adultos (8,8 g/dl; 8,6 g/dl; e 9,2 g/dl). Ao contrário, St. Aubin *et al*. (2001) encontraram níveis significativamente mais altos em baleias belugas imaturas do que baleias belugas adultas.

Análises dos níveis de proteínas totais do soro de boto vermelho entre amostras de soro congeladas por 30 e 60 dias (temperatura de –20 a –80°C) não apresentaram uma alteração significativa. Hunter & Madin (1978) comparando as análises de soro de amostras congeladas e frescas do lobo marinho do norte (*Callorhinus ursinus*), não detectaram uma variação dos níveis de proteínas totais após 107 dias de congelamento a uma temperatura de –20 a –40°C. Geraci & Medway (1974) notaram que a concentração plasmática de proteínas totais de *Tursiops truncatus* permanece estável por oito dias quando plasma é mantido no sangue total a uma temperatura de 4°C e 25°C ou quando apenas o plasma é mantido a uma temperatura de 25°C.. Assume-se, portanto, uma grande estabilidade deste elemento quando mantido congelado. Dessa forma, amostras de sangue que permanecem armazenadas em freezer a -80°C por até dois meses podem fornecer valores fidedignos.

4.2.2 Albumina

A albumina é uma das menores proteínas plasmáticas e é a principal proteína sintetizada no fígado, portanto casos de insuficiência hepática apresentam-se primariamente como hipoalbuminemia. A albumina também pode estar diminuída em casos de perda renal de proteína – síndrome nefrótica, glomeruonefrite, amiloidose; perda intestinal de proteína – enteropatia com perda de proteína; hemorragias e queimaduras, dietas deficientes em proteína, má absorção e condições virais (Kerr, 2003).

A produção de albumina é altamente dependente do funcionamento do fígado e de uma nutrição adequada. Os níveis de albumina são mais elevados em cetáceos do que em mamíferos terrestres. Os mamíferos marinhos, assim como os mamíferos terrestres, parecem ter uma tremenda capacidade de reserva para a produção de albumina no fígado. Isto limita o uso da albumina como um indicador precoce em doenças hepáticas (Bossart *et al*., 2001).

Níveis elevados de albumina podem ocorrer em casos de desidratação e choque. O decréscimo pode ser observado em casos de má nutrição, doenças gastrintestinais, perda de proteínas em nefropatias, hemorragias, doença hepática em nível avançado, e lesões extensivas e severas da pele com comprometimento da epiderme (Kerr, 2003).

Níveis plasmáticos médios de albumina entre filhotes, juvenis e adultos de boto vermelho (4,4 mg/dl; 2,7 mg/dl; e 3,3 mg/dl) não apresentaram uma diferença significativa; no entanto, em baleias belugas da Baía Hudson, Canadá, estudadas por St. Aubin *et al*. (2001) os níveis plasmáticos de albumina foram mais elevados nas fêmeas jovens do que em fêmeas mais velhas, porém esta diferença não ocorreu entre os machos da espécie (4,5 g/dl e 4,2 g/dl, respectivamente). Na comparação entre fêmeas prenhes e vazias, verificou-se que as fêmeas prenhes de boto vermelho apresentaram níveis séricos de albumina significativamente mais elevados que fêmeas vazias (4,8 mg/dl e 2,7 mg/dl, respectivamente). Provavelmente, o aumento do consumo de peixes (rico em proteínas) para suprimir as demandas energéticas durante a prenhez, tenha levado ao aumento plasmático de albumina nas fêmeas prenhes.

Após o congelamento do soro por 60 dias a uma temperatura de –20 a –40°C houve um decréscimo de 22% (de 3,4 mg/dl para 2,6 mg/dl) do nível de albumina no soro do boto vermelho. Portanto, a determinação dos níveis de albumina de amostras congeladas por 60 dias ou mais, deve ser cuidadosamente considerada em função de um provável decréscimo dos valores de albumina.

MINERAIS

Os minerais são importantes de alguma forma, na manutenção da atividade elétrica do organismo e suas anormalidades levam a sintomas, tanto nervosos, quanto falhas da contração muscular. Eles também são elementos estruturais importantes, principalmente o cálcio e o fosfato, especialmente nos ossos (Kerr, 2003).

4.2.3 Cálcio

O cálcio é muito importante na junção neuromuscular e na propagação do impulso de contração no músculo. É também o principal componente do osso. Cerca de metade do cálcio plasmático está livre e esta é a porção fisiologicamente ativa de cálcio, enquanto a outra metade encontra-se inativa, ligada à albumina (Kerr, 2003).

Apesar de uma hipercalcemia ser comumente oriunda de um processo patológico, como hiperparatiroidismo ou um tumor invadindo extensivamente o esqueleto, valores significativamente mais altos de cálcio foram encontrados em filhotes de boto vermelho clinicamente saudáveis. Fato também observado por St. Aubin *et al*. (2001) em 140 baleias belugas (*Delphinapterus leucas*).

Os níveis séricos de cálcio do boto vermelho deste estudo apresentam-se marcadamente mais elevados que os valores encontrados para esta espécie em cativeiro por Ridgway *et al*. (1970) (15,2 mg/dl e 4,5 mg/dl respectivamente). Menores níveis séricos de cálcio podem ser um reflexo de uma dieta inadequada. Rosas *et al*. (1999), em um estudo realizado com 14 peixes-bois da Amazônia, notaram que os animais selvagens apresentaram valores significativamente mais elevados de cálcio do que os animais de cativeiro em função de uma dieta deficiente deste mineral.

Os níveis plasmáticos de cálcio são mais elevados em vacas leiteiras vazias do que prenhes (González e Scheffer, 2001). As fêmeas prenhes do presente estudo também apresentaram níveis séricos de cálcio mais baixos (sem diferença estatística significante), provavelmente em função da diminuição de cálcio da corrente sangüínea para suprimento das demandas gestacionais. Bossart *et al*. (2001) afirmam que um aumento na concentração de proteínas totais resulta em um aumento dos níveis de cálcio. Assim como as proteínas totais, os maiores níveis plasmáticos de cálcio foram observados nos filhotes, apesar de não ter havido diferença significativa entre as classes etárias no primeiro elemento. Os filhotes apresentaram uma média de 21,1 mg/dl, os juvenis apresentaram uma média de 15,5 mg/dl e os adultos apresentaram uma média de 14,5 mg/dl. Observa-se um decréscimo dos níveis de cálcio conforme o animal vai atingindo a maturidade física e diminuindo a atividade osteoblástica.

Geraci & Medway (1974) observaram que a concentração plasmática de cálcio de *Tursiops truncatus*, quando o plasma é armazenado no sangue total, não sofre alterações significativas por oito dias quando mantidos a uma temperatura de 4°C e 25°C. Entretanto, quando apenas o plasma foi mantido a uma temperatura de 25°C, a concentração plasmática apresentou valores significativamente mais baixos. Hunter & Madin (1978), estudando a variação dos níveis plasmáticos de cálcio após o congelamento, detectaram uma pequena diminuição do mesmo após 107 dias, e atribuem a esta diminuição a um provável erro metodológico. Da mesma forma, foi observado no soro de boto vermelho um

decréscimo dos níveis de cálcio após 60 dias de congelamento a uma temperatura que variou de –20 a –80°C. Esta diminuição foi de 40%, portanto deve-se ter cautela ao se fazer análises dos níveis de cálcio em amostras de soro congeladas por dois meses ou mais.

4.2.4 Magnésio

O magnésio é um íon intracelular e sua concentração plasmática pode permanecer dentro de limites normais, mesmo diante de uma depleção marcante de todo o conteúdo corporal (Kerr, 2003). Os níveis plasmáticos de magnésio não são normalmente reportados em mamíferos marinhos (Bossart *et al*., 2001).

Os níveis de magnésio mostraram-se bastante uniformes tanto na comparação entre machos e fêmeas como na comparação entre as classes etárias. Segundo Bossart *et al*. (2001), a progesterona pode aumentar os níveis de magnésio. As fêmeas prenhes de boto vermelho apresentaram médias um pouco mais elevadas que as fêmeas vazias (4,0 mg/dl e 4,9 mg/dl respectivamente), porém sem uma diferença estatisticamente significativa.

O congelamento do soro do boto vermelho por 60 dias a uma temperatura de –20 a –80°C provocou uma alteração significativa dos níveis de magnésio. A média encontrada para o lote 02 (4,5 mg/dl) congelado por xx dias foi 48% mais baixa que a média do lote 01 (2,3 mg/dl) congelado por xx dias. Deve-se ter muita cautela ao se analisar amostras de soro congeladas por 60 dias ou mais, visto que o congelamento provoca grandes alterações dos níveis de magnésio.

SUBSTÂNCIAS NITROGENADAS

São produtos metabólicos envolvidos na excreção de nitrogênio – são eles: uréia, creatinina, amônia e ácido úrico (Kerr, 2003).

4.2.5 Uréia

A uréia é um produto metabólico nitrogenado é formado no fígado como produto final da quebra de aminoácidos. Depois de formada é transportada pelo plasma até os rins, onde é excretada na urina. Alguns fatores alimentares podem levar a um aumento da concentração plasmática de uréia tais como excesso de proteína, proteína alimentar de baixa qualidade e deficiência alimentar de carboidratos. Outros efeitos metabólicos tais

como insuficiência renal, septicemia grave e anormalidades hormonais levam a valores alterados, embora diferentes raças de uma mesma espécie possam apresentar valores distintos dos níveis de uréia (Kerr, 2003).

Existem dois métodos de mensuração gravimétricos diferentes da concentração de uréia, ambos expressos em mg/100mL. Um é diretamente miligramas de uréia por 100mL; a outra é miligrama de nitrogênio da uréia por 100mL, chamada de BUN (nitrogênio uréico sangüíneo) (Kerr, 2003).

Segundo Bossart *et al*. (2001), os níveis normais de BUN em mamíferos marinhos são geralmente mais elevados do que em mamíferos terrestres. A conversão de proteínas (que constituem a principal fonte de alimento dos cetáceos) em glicose provoca uma uremia acentuada. Além disso, níveis elevados de uréia promovem maior facilidade aos rins em excretar uma urina hiperosmótica. Ridway *et al*. (1972) acreditam que altas taxas de uréia no sangue de mamíferos aquáticos se devem, além da dieta rica em proteínas, a uma taxa metabólica elevada.

A média encontrada para o boto vermelho de vida livre foi de 121 mg/dl. Comparando-se com a média observada em cinco indivíduos *Inia boliviensis* (77 mg/dl) (De Monte & Pilleri, 1984), e com sete indivíduos *Inia geoffresis* mantidos em cativeiro (88 mg/dl) (Ridgway *et al*., 1970), verifica-se que os botos vermelhos do presente estudo ainda apresentam as maiores médias, o que corrobora com a afirmação de Ridgway *et al*. (1972) e se dá provavelmente em função de um consumo maior de proteínas do que os animais mantidos em cativeiro.

Uma diferença significativa dos níveis de uréia entre machos e fêmeas foi encontrado por St Aubin *et al*. (2001) para belugas adultas (*Delphinapterus leucas*) do Ártico. No entanto, para o boto vermelho nesse estudo, não foi encontrado diferença significativa entre os sexos (120 mg/dl e 123 mg/dl, respectivamente).

Segundo Bossart *et al*. (2001), animais imaturos podem ter níveis mais baixos de BUN que adultos. Cornell (1983) observou que os maiores valores de BUN em baleias orcas (*Orcinus orca*) pertenciam a machos adultos. Os juvenis de boto vermelho, como em outras espécies marinhas, apresentaram valores mais baixos dos níveis séricos de uréia (81mg/dl) do que filhotes e adultos. Como a uréia pode estar aumentada logo após a ingestão de alimentos ricos em proteínas (St. Aubin *et al*., 2001) é possível que filhotes e adultos apresentem níveis mais elevados de uréia em função do consumo mais freqüente de

uma dieta rica em proteínas. Os juvenis enfrentam uma fase de transição entre a lactação e ingestão de alimentos sólidos com dificuldade na captura do alimento, talvez essa dificuldade na apreensão dos peixes faz com estes nessa fase estes animais tenham níveis de uréia mais baixos que adultos e filhotes.

As fêmeas prenhes apresentaram uma média dos níveis séricos de uréia 38% mais elevada que as fêmeas vazias (163 mg/dl e 118 mg/dl, respectivamente). Essa diferença pode ser devido a uma maior ingestão de alimentos ricos em proteínas (peixes no caso do boto vermelho) para suprir a demanda energética da gravidez, aumentando os níveis de uréia em fêmeas prenhes.

As análises dos níveis de uréia de amostras de soro mantidas congeladas em freezer por 60 dias ou mais a uma temperatura de –20 a –80°C, devem ser consideradas com cautela, já que foi observada uma redução de 14% dos níveis séricos de uréia, mostrando que o congelamento provoca mudanças significativas dos níveis da mesma.

4.2.6 Creatinina

A creatinina, assim como a uréia, é um produto de degradação nitrogenado *en route* aos rins, mas não é um produto da quebra de aminoácidos e sim da quebra da creatina. A creatina é uma substância presente no músculo que está envolvida no metabolismo energético, particularmente na estabilização de ligações de fosfato de alta energia não necessárias para o uso imediato (Kerr, 2003). A creatinina, assim como a BUN, é um índice bruto da filtração glomerular (Bossart *et al*., 2001).

Existe uma correlação entre a massa muscular e a concentração de creatinina; assim, dentro de uma determinada espécie, um indivíduo particularmente musculoso pode ter um valor normal de creatinina um pouco acima do limite do valor de referência estabelecido (Kerr, 2003). Cornell (1983) observou que em baleias orcas, os machos adultos mais velhos (e conseqüentemente com maior massa muscular) possuíam os maiores valores de creatinina. Essa correlação também parece ocorrer em botos vermelhos, onde machos adultos são muito maiores e mais musculosos que as fêmeas adultas (Martin e da Silva, 2006) e conseqüentemente apresentaram médias mais elevadas (2,1 mg/dl e 1,9 mg/dl, respectivamente), porém sem uma diferença estatisticamente significativa entre os sexos.

A creatinina pode estar artificialmente aumentada em amostras lipêmicas; ou diminuídas em amostras hemolisadas, ictéricas ou quando se faz uso do anticoagulante

EDTA ou oxalato. De Monte & Pilleri (1984) afirmam que os valores médios encontrados para odontocetos são decididamente menores que 2 mg/dl. Os adultos do boto vermelho possuem maior massa muscular, e também apresentaram as concentrações plasmáticas de creatinina mais elevadas (1,9 mg/dl); os juvenis apresentaram os valores intermediários (1,8 mg/dl); e os filhotes os apresentaram os valores mais baixos (1,7 mg/dl), no entanto uma diferença estatisticamente significativa entre as classes etárias não foi observada.

Segundo Kerr (2003) a creatinina é mais lábil que a maioria dos substratos ou substâncias não enzimáticas analisados, por isso, o resultado de uma amostra colhida há vários dias pode não ser muito preciso e está sujeito a algumas interferências do teste. O presente estudo demonstrou que a manutenção do soro congelado por 60 dias não afeta de maneira significativa a concentração de creatinina. Hunter & Madin (1978) também não notaram mudanças significativas dos valores de creatinina após o congelamento do soro do lobo marinho do Norte (*Callorhinus ursinus*) por 166 dias (temperatura de –20 a –40°C).

CARBOIDRATOS

4.2.7 Glicose

Uma concentração plasmática de glicose adequadamente alta é essencial para o funcionamento normal do cérebro. O organismo utiliza vias elaboradas para garantir a manutenção da glicemia e, como resultado, a glicose pode, em um momento particular, vir de uma ou mais fontes, dependendo do estado atual do metabolismo de carboidratos. Nas situações normais do dia-a-dia, o glucagon e o hormônio do crescimento (GH) são responsáveis pela manutenção de níveis adequados de glicose, enquanto em estados anormais (como jejum prolongado e estresse) os glicocorticóides e a adrenalina são particularmente importantes (Kerr, 2003).

Uma hiperglicemia não diabética também pode ocorrer logo após refeições ricas em carboidratos, em exercícios de disparo, e tratamentos com fluidos intravenosos glicosilados (Kerr, 2003). Em cetáceos, o metabolismo do glucídeo, essencial para o funcionamento apropriado dos músculos e para o suprimento adequado do tecido nervoso e músculo cardíaco durante o exercício, é baseado apenas na gliconeogênese (De Monte & Pilleri, 1984).

Segundo Ridgway (1972) os níveis de glicose em mamíferos marinhos em jejum são mais elevados do que em animais domésticos (≥ 100mg/dl). Isto provavelmente ocorre

como uma resposta do animal à contenção e manipulação, promovendo a liberação de glicocorticóides endógenos (Bossart *et al*., 2001). Golfinhos de cativeiro que ficam muito agitados e estressados durante uma manipulação apresentam níveis de glicose de 10 a 30 % mais elevados que os animais mais dóceis (Ridgway *et al*., 1972). Os botos do presente estudo apresentaram um IC de 138-224 mg/dl, valor consideravelmente mais elevado do que o observado em animais domésticos como cães (62-108mg/dl), gatos (61-124 mg/dl) e suínos (66-116 mg/dl) (Fraser, 1991), provavelmente em função de estresse agudo sofrido durante a captura.

Cornell (1983) observou diferenças significativas dos níveis de glicose entre classes etárias de baleias orcas de cativeiro, onde filhotes possuem níveis significativamente mais elevados que adultos. Asper *et al*. (1990) também observaram que golfinhos *Tursiops truncatus* mais jovens têm maiores níveis de glicose que os adultos. Não foram detectadas diferenças dos níveis de glicose entre as classes etárias e nem entre machos e fêmeas para o boto vermelho, conseqüentemente não se pode perceber diferenças dos níveis de estresse entre os mesmos.

Segundo González & Scheffe (2001), o nível de glicose tende a ser menor no terço final da gestação do que nos períodos anteriores, isto é, os níveis tendem a diminuir à medida que a gestação avança. Sabe-se que o feto *in útero* demanda glicose como maior fonte de energia. A maioria das fêmeas prenhes examinadas nesse estudo estava dentro do primeiro trimestre de gestação, apesar disso, mesmo com as médias maiores que as fêmeas vazias (251 mg/dl e 189 mg/dl, respectivamente), esta diferença não foi significativa estatisticamente.

Os valores de referência encontrados neste estudo provavelmente não refletem a glicemia normal em função do estresse sofrido pelos animais durante a colheita de amostra. Além disso, já que a mensuração da glicose necessita de uma amostra específica – o sangue deve ser colhido em tubos contendo fluoreto (Kerr, 2003). Contudo, variações dos níveis séricos de glicose poderão futuramente ser percebidas em amostras de botos vermelhos utilizando-se a mesma metodologia empregada no presente estudo.

Ridgway *et al*. (1970) encontrou uma média de 121mg/dl para oito botos vermelhos mantidos em cativeiro, valor mais baixo do que a média encontrada para botos vermelhos de vida livre do presente estudo (184 mg/dl). Provavelmente, o estresse sofrido pelos animais de vida livre durante a captura, ou em ambiente natural é maior do que animais que

são rotineiramente manuseados, o que resulta em níveis de glicose mais elevados. Além disso, as amostras processadas com metodologias diferentes podem ocasionar resultados diferentes.

Hunter & Madin (1978), analisando amostras de soro frescas e amostras congeladas por 125 dias, notaram uma redução de 9% nos níveis de glicose do soro de lobo marinho do Norte (*Callorhinus ursinus*) na amostra congelada. Estes autores afirmam que esta redução deve-se à falta do conservante fluoreto de sódio na amostra. Medway & Geraci (1974), também observaram um decréscimo da concentração plasmática de glicose quando o plasma é armazenado no sangue total por oito dias a uma temperatura de 4° e 25°C, e também quando apenas o plasma é armazenado a uma temperatura de 25°C, e afirmam que esta diminuição pode ser atribuída a uma glicólise anaeróbica. No presente estudo, houve uma redução de 40% (de 194mg/dl para 115 mg/dl) dos níveis de glicose após o congelamento do soro de boto vermelho por 60 dias a uma temperatura de –20 a –90ºC. Este resultado corrobora com os achados dos autores supracitados e deve-se possivelmente à glicose anaeróbica que ocorreu no período em que amostra esteve congelada.

BILIRRUBINA E METABOLISMO LIPÍDICO

4.2.8 Bilirrubina

A bilirrubina é um subproduto da quebra da molécula heme. Em sua forma inicial, não é solúvel em água; por isso, quando está no plasma, encontra-se ligada à albumina. É transportada via retículo endotelial ao fígado, onde é conjugada com o ácido glicurônico e outras substâncias e transformada em solúvel. O conjugado de bilirrubina é excretado na bile, e ela e seus pigmentos associados são responsáveis pela cor acastanhada característica das fezes (Kerr, 2003).

O soro fica tipicamente amarelado quando os níveis de bilirrubina são maiores que 1mg/dl. A icterícia pode ocorrer com a destruição acelerada dos eritrócitos, doença intrahepática obstrutiva, ou diminuição do fluxo de bile nos ductos biliares (forma extrahepática). Em mamíferos marinhos, a cinética do metabolismo da bilirrubina é desconhecida. Portanto, deve-se ter cautela na interpretação da concentração plasmática de bilirrubina direta e indireta (Bossart *et al.*, 2001). A bilirrubina direta é a bilirrubina conjugada, e a bilirrubina não conjugada ou indireta é calculada por subtração da bilirrubina total (Kerr, 2003).

Mc Connel & Vaughan (1983) notaram poucas mudanças sangüíneas em focas comuns (*Phoca vitulina*) relacionadas à idade, apesar dos níveis de bilirrubina serem maiores em filhotes. Esses autores sugerem que isto se deve ao fato de o fígado não estar totalmente funcional após alguns dias do nascimento, e pela rápida desagregação e aumento da hemoglobina fetal. Embora apresentem um desenvolvimento bastante distinto, os filhotes de boto vermelho também apresentaram os maiores valores de bilirrubina total (1,1 mg/dl), seguidos dos adultos (0,8 mg/dl) e juvenis (0,4 mg/dl), porém uma diferença estatisticamente significativa não foi observada.

Geraci & Medway (1974) analisando o efeito da estocagem do soro de *Tursiops truncatus*, notaram que a concentração de bilirrubina total plasmática não sofre alterações significativas após a manutenção do soro por oito dias a 25°C. No entanto, no presente estudo, o congelamento do soro de boto vermelho por 60 dias provocou um aumento significativo tanto de bilirrubina total, como de bilirrubina indireta. A bilirrubina total teve um aumento de 38% (de 0,9 mg/dl para 1,2 mg/dl), já o lote 02 da bilirrubina indireta teve um aumento de 64% em relação ao lote 01 (de 0,4 mg/dl para 0,7 mg/dl). Esse resultado também foi observado em amostras de soro de foca comum (*Phoca vitulina*) após 110 dias de congelamento a uma temperatura de –20 a –40°C, onde foi constatado o aumento de 8,4% dos níveis de bilirrubina (Hunter & Madin 1978).

4.2.9 Colesterol

O colesterol é um componente da membrana celular, onde fica entre os "braços" do ácido graxo das moléculas lipídicas e aumenta a rigidez da estrutura da membrana. O excesso de colesterol é secretado na bile, parte como ácidos e sais biliares, parte como colesterol inalterado (que pode ser reabsorvido). No homem, a hipercolesterolemia está associada a arteosclerose e doença cardíaca isquêmica, mas não há este tipo de associação nos animais domésticos (Kerr, 2003).

Um aumento plasmático de colesterol pode ser observado logo após refeições gordurosas, em doença hepática ou biliar, síndrome nefrótica, diabetes melito, Síndrome de Cushing e hipotiroidismo (Kerr, 2003). St. Aubin *et al*. (2001) afirmaram que o colesterol plasmático de baleias belugas pode estar aumentado logo após a ingestão de alimentos.

O Asper *et al*. (1990) observaram que golfinhos *Tursiops truncatus* de vida livre possuem níveis de colesterol mais elevados que os golfinhos em cativeiro, e atribui esta

diferença a um consumo de diferentes dietas entre os dois grupos. O valor médio de colesterol dos botos de vida livre do presente estudo (333 mg/dl) foi maior do que a média encontrada para sete *Inia geoffrensis* (203 mg/dl) (Ridgway *et al.* 1970) e quatro *Inia boliviensis*, mantidos em cativeiro. Provavelmente, o nível de colesterol mais elevado nos botos selvagens é conseqüência da maior ingestão de gordura presente nos peixes que fazem parte de sua dieta.

Não foram encontradas diferenças relacionadas ao sexo em um estudo feito ao longo de seis anos com baleias belugas (*Delphinapterus leucas*) em cativeiro. Porém, houve uma diferença significativa dos níveis de colesterol entre adultos e jovens, sendo os valores mais elevados dos animais mais velhos (Cornell *et al.*, 1988). Já Goldstein *et al.* (2006), observaram que fêmeas de uma população de vida livre de *Tursiops truncatus* têm níveis mais elevados de colesterol que machos. No entanto, no presente estudo, fêmeas e machos de boto vermelho não apresentaram diferença estatisticamente significante entre os valores médios de colesterol (347 mg/dl e 313 mg/dl, respectivamente).

St. Aubin *et al.* (2001) observaram que baleias belugas adultas têm níveis plasmáticos de colesterol mais elevados que as baleias imaturas. Também nos botos deste estudo, observa-se que os adultos têm os maiores níveis, seguidos dos filhotes e juvenis (344 mg/dl; 232 mg/dl; e 326 mg/dl), entretanto sem uma diferença estatisticamente significativa entre as classes.

As fêmeas prenhes de boto vermelho (*Inia geoffrensis*) do presente estudo apresentaram médias significativamente mais elevadas de colesterol que fêmeas adultas vazias (452 mg/dl e 285 mg/dl, respectivamente). A maior ingestão de alimento em função da grande demanda energética para gerar um feto pode ser um dos motivos pelo qual as fêmeas prenhes tenham níveis de colesterol mais elevados. A mesma situação foi observada por González e Scheffer (2001) estudando a bioquímica sangüínea de vacas leiteiras.

Um aumento de 4% dos níveis de colesterol em amostras de soro de lobo marinho do Norte (*Callorhinus ursinus*), congeladas por 127 dias a uma temperatura de –20 a –40°C, foi observado por Hunter & Madin (1978). Este resultado sugere que ocorreu uma lenta liberação de colesterol dos complexos que não haviam sido afetados pelos reagentes (responsáveis por promover a leitura do colesterol total, ou seja, em todas as suas formas) durante o congelamento (Hunter & Madin, 1978). Já Geraci & Medway (1974) observaram que a concentração plasmática de colesterol de *Tursiops truncatus* não variou quando

armazenadas por oito dias em sangue total a uma temperatura de 25°C ou 4 °C, ou apenas plasma armazenado a uma temperatura de 25 °C. O nível de colesterol do soro congelado do boto vermelho por 60 dias apresentou um decréscimo de 26%, portanto o resultado de análises de amostras congeladas deve ser interpretado cautelosamente.

4.2.10 Triglicérides

A gordura é estocada como triglicéride, que consiste de três resíduos de ácidos graxos esterificados em uma unidade de glicerol, em depósitos gordurosos. Um aumento dos níveis plasmáticos de triglicérides ocorre em vários quadros e deve ser suspeitado quando uma suspensão branca leitosa (lipemia) é observada no plasma. Cetáceos e pinípedes em situação pós-prandial, apresentam o soro lipêmico com elevadas concentrações de triglicerídeos (Geraci *apud* Bossart *et al*., 2001). St Aubin *et al*. (2001) também afirmaram que pode haver um aumento dos níveis de triglicérides logo após a ingestão de alimentos.

Asper *et al*. (1990), estudando golfinhos nariz-de-garrafa mantidos em cativeiro e de vida livre, observaram que os níveis de triglicérides foram significativamente mais elevados nos últimos, e afirma que esta diferença é influenciada pela dieta. Segundo Geraci (1986), existe uma variação na composição de proteínas e gordura das diferentes espécies de peixes, e conseqüentemente a quantidade ingerida de cada elemento dependerá da espécie consumida. Foi encontrada uma concentração plasmática média de triglicérides de 122 mg/dl para os botos vermelhos do presente estudo, valor bastante similar ao encontrado por De Monte e Pilleri (1984) para dois indivíduos *Inia boliviensis* (120 mg/dl) mantidos em cativeiro.

Goldstein *et al*. (2006) observaram que fêmeas têm níveis séricos mais elevados de triglicérides que machos em uma população de *Tursiops truncatus* de vida livre da Flórida. Os níveis de triglicérides de machos e fêmeas de boto vermelho deste estudo foram similares (128 mg/dl e 118 mg/dl, respectivamente). Não foram encontradas diferenças entre os níveis de triglicérides relacionadas ao sexo em um estudo feito ao longo de seis anos com baleias belugas (*Delphinapterus leucas*) em cativeiro. Porém, houve uma diferença significativa entre adultos e jovens, sendo os valores mais elevados dos animais mais velhos (Cornell *et al*., 1988). Ao contrário, Goldstein *et al*. (2006) observaram que juvenis de uma população de *Tursiops truncatus* de vida livre apresentam valores médios

mais elevados de triglicérides que os adultos. Da mesma forma, os botos vermelhos filhotes apresentaram os maiores valores, e isto pode ser explicado pela alta freqüência de ingestão de leite materno, que segundo De Monte & Pilleri (1984) é rico em proteínas e lipídios.

González e Scheffer (2001) afirmam que vacas leiteiras prenhes têm níveis plasmáticos de triglicérides mais elevados que as vacas vazias. Kuiken (1985) também observou em focas comuns (*Phoca vitulina*), que as fêmeas prenhes têm níveis mais elevados de triglicerídeos no plasma que focas vazias. O mesmo foi observado no presente estudo, onde as fêmeas prenhes tiveram a média de triglicérides 74% mais elevadas que as fêmeas adultas vazias (159 mg/dl e 91 mg/dl). Da mesma forma que o colesterol, os triglicérides estão envolvidos no metabolismo energético, e uma prenhez requer um alto consumo de energia para geração do feto. Portanto, fêmeas prenhes tendem a se alimentar mais e com maior freqüência a fim de suprir esta demanda, conseqüentemente, os níveis séricos dos triglicérides podem estar mais elevados.

ENZIMAS PLASMÁTICAS

Pouquíssimas enzimas são específicas apenas para um único tipo celular. Na verdade, muitas enzimas estão presentes em quase todas as células, em quantidades diferentes, e a maioria das enzimas tem dois ou três tecidos diferentes em que são particularmente abundantes. Normalmente, baixos níveis destas enzimas aparecem no plasma, refletindo o equilíbrio entre a liberação de enzimas durante a renovação celular normal e seu catabolismo ou excreção. Um aumento dos níveis plasmáticos de uma enzima ocorre principalmente por lesão, ruptura ou necrose das células do órgão ou tecido que contém tal enzima. Os níveis atingidos dependem da taxa e da extensão da lesão celular, contrabalanceadas com a taxa de catabolismo ou excreção (Kerr, 2003).

Podem ocorrer elevações inespecíficas nas atividades enzimáticas relacionadas à idade – neonatos têm níveis enzimáticos mais altos de muitas enzimas; indução enzimática causada por drogas; e amostras hemolisadas, já que as enzimas liberadas das hemácias são capazes de interferir no resultado do teste. A diminuição dos níveis plasmáticos não é de grande importância na interpretação clínica e geralmente está associada ao mal armazenamento das amostras (Kerr, 2003).

4.2.11 Alanina aminotransferase (ALT)

A atividade principal desta enzima está concentrada no fígado e coração. Uma pequena atividade também ocorre na musculatura esquelética, rins, supra-renal e pâncreas (De Monte & Pilleri, 1984). A ALT é uma transaminase com função semelhante à da AST, e normalmente não tem isoenzimas específicas. Em cães e gatos ela é predominantemente específica para lesão celular hepática, e também pode estar aumentada em casos de lesão muscular grave (Kerr, 2003).

Asper *et al*. (1990) observaram que golfinhos nariz-de-garrafa juvenis possuem atividade enzimática de ALT significativamente mais elevada que os adultos (32 UI/L e 25 UI/L). Ao contrário, a atividade enzimática de AST é menor nos filhotes e juvenis de botos que adultos (38 UI/L; 52 UI/L; e 125 UI/L, respectivamente), e apesar de aparentemente apresentarem valores discrepantes, não foram detectadas diferenças estatisticamente significativas.

Um estudo feito por Mc Connel & Vaughan (1983) verificou que os valores de ALT estavam consideravelmente mais baixos nas amostras congeladas por oito semanas quando comparadas com amostras frescas de soro de focas comuns (*Phoca vitulina)*. Uma redução de 63% dos níveis de ALT foi observada por Hunter & Madin (1978) após o congelamento do soro de lobo marinho do Norte (*Callorhinus ursinus*) por 161 dias a uma temperatura de –20 a –40°C. No presente estudo, ocorreu uma drástica redução dos níveis de ALT do soro congelado por 60 dias a uma temperatura de –20 a –90°C, passando de 122 para 4 UI (97%). Enzimas plasmáticas em geral são muito lábeis e o congelamento do soro pode provocar reduções significativas dos níveis de ALT.

4.2.12 Amilase

A presença de amilase não foi determinada em pâncreas de cetáceos (Arvy *apud* de Monte & Pilleri, 1984), porém pode se presumir que como a dieta de cetáceos é constituída quase que exclusivamente de proteínas e lipídios, a produção desta enzima pode ser muito baixa em função da falta do substrato. Também deve ser citado que cetáceos não possuem glândulas salivares (De Monte & Pilleri, 1984).

Apesar da dieta rica em proteínas, o boto vermelho apresentou níveis significativos destas enzimas. A média encontrada para a espécie (88 UI/L) foi maior que a média

encontrada para *Phocoena Phocoena* selvagens (75 UI/L) da Baía Fundy, Canadá (Koopman *et al*., 1995).

Níveis mais elevados de amilase foram observados em peixes-bois filhotes e juvenis sadios do que em outros mamíferos aquáticos (Bossart *et al*., 2001). Esta elevação não esteve relacionada com doenças pancreáticas. Os níveis mais baixos de amilase foram observados nos juvenis de boto vermelho, porém sem uma diferença significativa quando comparado com filhotes e adultos (39 UI/L; 81 UI/L; e 83 UI/L, respectivamente).

As fêmeas adultas prenhes de boto vermelho apresentaram níveis significativamente mais elevados de amilase (116%) que fêmeas adultas vazias. A amilase é uma das enzimas envolvidas na degradação do amido, que é uma importante fonte de energia, portanto um aumento da amilase no sangue poderia promover um incremento na mobilização de energia para ser utilizada durante a gestação.

4.2.13 Aspartato transaminase (AST)

Esta enzima está amplamente distribuída no organismo; encontrada particularmente no músculo esquelético, no músculo cardíaco, no fígado e nas hemácias (Kerr, 2003). O mesmo acontece para os mamíferos marinhos (Bossart *et al*., 2001). É utilizada em todas a espécies para investigação de lesão muscular. A atividade plasmática normal da AST é menor que 100UI/L em todas as espécies de animais domésticos, exceto no cavalo (Kerr, 2003) e pode estar mais elevado em animais submetido à exaustão como um reflexo de lesão muscular (Bossart *et al*., 2001). O boto vermelho apresentou uma atividade média mais elevada (146 UI/L), o que pode ser uma característica intrínseca da espécie ou o resultado de um grande esforço muscular durante o processo da captura.

Segundo Ridgway (1972), os valores de AST em golfinhos são comparativamente mais elevados em animais com taxas metabólicas mais elevadas. Comparativamente, os golfinhos de rio são mais lentos e apresentam uma menor taxa metabólica do que os golfinhos marinhos. Comparando-se a média do boto vermelho (146 UI/L) com a média de *Phocoena phocoena* selvagens (294 UI/L), percebe-se que a segunda, uma espécie virtuosamente mais ágil, apresenta a maior média.

A atividade enzimática de AST de golfinhos nariz-de-garrafa mais jovens é maior que a dos adultos (Asper *et al*., 1990). Ao contrário, os filhotes de boto vermelho

apresentam atividade enzimática de AST menor que os adultos, porém sem uma diferença estatisticamente significativa (156 UI/L e 177 UI/L, respectivamente).

O congelamento durante 60 dias provocou uma redução de 27% da atividade enzimática, a média do lote 01 foi de 196 UI/L e do lote 02 foi de 107 UI/L. A atividade enzimática de AST sofreu grande mudança após o congelamento por 60 dias a uma temperatura de –20 a –80°C, portanto o uso de amostras congeladas deve ser feito com cautela.

4.2.14 Creatina quinase (CK)

A CK está envolvida no metabolismo de alta energia e está presente como um dímero. Podemos encontrar dois tipos de subunidades – M e B. Portanto há três formas de isoenzimas possíveis: CK-MM que é a forma do músculo esquelético; CK-MB que é a forma do músculo cardíaco; e CK-BB que é a forma cerebral. Geralmente a mensuração de CK total reflete a isoenzima MM, que é a mais abundante (Kerr, 2003).

Aparentemente, a maioria dos aumentos plasmáticos de CK em mamíferos marinhos está relacionada a atividades vigorosas, transporte, cirurgias, encalhes, capturas, e injeções intramusculares (Bossart *et al*., 2001).

A atividade muscular intensa durante processos de captura pode elevar os níveis da atividade de CK, e apesar de baleias belugas imaturas (mantidas em cativeiro) apresentarem maiores índices, aparentemente não há uma resistência maior ao procedimento da captura do que animais adultos. De qualquer forma, baleias selvagens apresentam maior atividade do que baleias mantidas em cativeiro e manipuladas com mais freqüência (St. Aubin *et al*., 2001).

Foi observado nos botos vermelhos do presente estudo, que os filhotes tiveram uma média de 299 UI/L; os juvenis tiveram uma média de 115 UI/L; e os adultos uma média de 84 UI/L. Houve um decréscimo da atividade enzimática de CK com o avanço da idade. Asper *et al*. (1990) também notaram que *Tursiops truncatus* jovens têm atividade enzimática de CK maior que os adultos (80 UI/L e 60 UI/L, respectivamente). St Aubin *et al.* (1979) notaram que filhotes de focas da Groelândia (*Phoca groenlandica*) apresentam maior atividade sérica de CK quando submetidos ao estresse agudo. Portanto, a hipótese de que os filhotes sofreram maior estresse que juvenis e adultos e conseqüentemente apresentaram maior atividade de CK, não pode ser descartada.

Goldstein *et al*. (2006) notaram, em uma população de *Tursiops truncatus* de vida livre da Flórida, que as fêmeas têm a atividade enzimática de CK maior que os machos. Ao contrário, as fêmeas de boto vermelho apresentaram valores mais elevados da atividade enzimática de CK, porém esta diferença não foi estatisticamente significativa (115 UI/L e 162 UI/L, respectivamente).

4.2.15 Desidrogenase lática (DHL)

A DHL é uma isoenzima cardíaca também conhecida como hidroxibutirato desidrogenase, HBDH ou HBD. Catalisa a interconversão reversível do lactato e do piruvato e é uma das maiores moléculas protéicas do organismo. Ela é um tetrâmero e as subunidades apresentam-se em duas formas: H e L. Existem cinco isoenzimas (DHL_{1-5}): DHL_1 associada ao músculo cardíaco, rins e hemácias; DHL_5 associada ao fígado; e as outras isoenzimas que estão associadas ao músculo esquelético e pulmões. Por causa da sua ampla distribuição no organismo, o aumento da atividade de DHL total pode ser muito difícil de ser interpretado em medicina veterinária, no entanto, a separação eletroforética de isoenzimas é essencial para apontar a fonte da doença (Kerr, 2003).

Condições clínicas diversas em cetáceos, tais como injeções intramusculares, traumas e terapias com azóis, promovem padrões distintos da atividade das isoenzimas de DHL. Em cetáceos encalhados, a atividade de DHL total pode estar aumentada, assim como em alguns tipos de pneumonias (Bossart & Trimm *apud* Bossart *et al*. 2001).

Segundo Ridgway *et al*. (1970), danos na musculatura esquelética produzem um aumento significativo da atividade enzimática de DHL no plasma. As médias encontradas por estes autores para sete machos e três fêmeas de *Inia geoffrensis* mantidos em cativeiro foram de 462 UI/L e 305 UI/L respectivamente. Valores mais elevados foram encontrados para machos e fêmeas de vida livre do presente estudo 526 UI/L e 605 UI/L. Provavelmente o estresse de captura e o tempo de contenção dos animais também podem ter contribuído para a ocorrência de médias mais elevadas.

Asper *et al*. (1990) notaram que golfinhos nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*) imaturos têm a atividade enzimática de DHL mais elevada que os adultos (244 UI/L e 194 UI/L, respectivamente). Os filhotes de boto vermelho também apresentaram médias da atividade de DHL quase duas vezes mais elevada que juvenis e adultos (680 UI/l; 327 UI/L;

e 506 UI/L, respectivamente), no entanto, uma diferença significativa estatisticamente não foi observada.

Apesar de normalmente haver redução da atividade da maioria das enzimas após o congelamento, a DHL não apresentou esta redução após o congelamento por 60 dias. Ao contrário, houve uma pequena elevação da atividade enzimática de 571 UI/L para 634 UI/L. Aparentemente, a atividade enzimática de DHL não é afetada pelo congelamento do soro por até 60 dias a –80°C.

4.2.16 Fosfatase Alcalina

A fosfatase alcalina está localizada na membrana celular do tecidos de vários órgãos incluindo fígado, rim, osso, coração, parede intestinal e músculo esquelético. É uma das enzimas mais amplamente distribuídas pelo organismo e consiste em um grupo de várias isoenzimas que hidrolisam fosfatos em pH alcalino. Em mamíferos terrestres, as isoenzimas da fosfatase alcalina podem ser separadas por eletroforese, e duas delas são diagnosticamente importantes: a hepatobiliar e a óssea (Bossart *et al.*, 2001). Geralmente são encontrados níveis mais elevados de fosfatase alcalina em filhotes com alta atividade osteoblástica; sendo que após o fechamento dos discos epifisários os níveis são menores, e a maioria de origem hepática (Kerr, 2003). Em várias espécies de cetáceos elevados níveis de fosfatase alcalina foram observados em filhotes em fase de crescimento (Bossart *et al.*, 2001). Um valor significativamente mais elevado foi observado nos filhotes de boto vermelho (231 UI/L), um valor intermediário nos juvenis (140 UI/L) e valores mais baixos nos adultos (85 UI/L), indicando um decréscimo da atividade enzimática com o avanço da idade. St. Aubin *et al.* (2001) e Asper *et al.* (1990) também notaram que a atividade da fosfatase alcalina é maior em animais imaturos do que nos adultos tanto em baleias belugas como para golfinhos nariz-de-garrafa (238 UI/L, 134 UI/L; e 401 UI/L, 259 UI/L, respectivamente). Em recém-nascidos de focas comuns (*Phoca vitulina*), a fosfatase alcalina também mostrou níveis mais elevados, provavelmente em resposta a um rápido crescimento ósseo nos primeiros meses de vida nessa espécie (Mc Connel & Vaughan, 1983).

Nesse estudo, os machos apresentaram níveis de fosfatase alcalina significativamente mais elevados que as fêmeas (84 UI/L e 114 UI/L). Segundo da Silva (1993) os machos de boto vermelho atingem a maturidade sexual com um comprimento

muito maior que das fêmeas, e alcançam a maturidade física também mais tardiamente. Assim sendo, os maiores níveis de fosfatase alcalina nos machos parece ser um reflexo do desenvolvimento ósseo que perdura por mais tempo neste gênero.

O congelamento do soro aparentemente altera os valores dos níveis de fosfatase alcalina, reduzindo a sua concentração em mamíferos aquáticos. Hunter & Madin (1978) observaram um decréscimo de 7,3% dos níveis de fosfatase alcalina após o congelamento do soro de lobo marinho do Norte (*Callorhinus ursinus*) por 131 dias a uma temperatura de –20 a –40°C. Da mesma forma, no soro de boto vermelho foi notado um decréscimo de 23% após o congelamento por 60 dias a uma temperatura de –20 a –80°C. Mc Connel & Vaughan (1983) também notaram que o congelamento do soro de focas comuns (*Phoca vitulina)* por 8 semanas diminuiu significativamente os valores de fosfatase alcalina.

4.2.17 Gama glutamil transferase (GGT)

A GGT é uma enzima localizada na membrana celular de muitos órgãos, incluindo fígado, coração, músculo esquelético, rins e pâncreas (Bossart 2001), mas em termos clínicos, sua aplicação está restrita a quadros hepáticos (Kerr, 2003). Na maioria dos mamíferos terrestres a atividade enzimática da GGT é mínima, mas pode se tornar marcadamente elevada no soro quando ocorre um estímulo de sua produção subseqüente a uma diminuição da produção da bile em golfinhos. Isto também parece ocorrer em colestase e doenças do trato biliar em algumas espécies de golfinhos (Bossart *et al*., 1990). Em *Tursiops truncatus* a cirrose hepática pode levar a uma atividade enzimática maior que 1000 IU/L (Bossart *et al*., 2001).

St. Aubin *et al*. (2001) notaram diferença dos níveis de GGT entre os sexos de sete machos e 16 fêmeas de belugas adultas da Baía Hudson, Canadá (14 UI/L e 28 UI/L, respectivamente). Ao contrário, os níveis de atividade enzimática de GGT de machos e fêmeas de *Inia geoffrensis* do presente estudo foram bastante similares (21 UI/L e 20 UI/L). Comparando-se os valores de machos e fêmeas por classes, apenas na classe adulta, verifica-se que também permanecem bastante próximos (20 UI/L e 21 UI/L, respectivamente), não diferindo da média geral para cada um dos gêneros. Segundo Bossart *et al*. (2001), o colostro e o leite materno têm grande atividade de GGT, e animais domésticos lactentes têm atividade de GGT do soro elevada. Os filhotes lactentes de boto

apresentaram médias ligeiramente mais elevadas que adultos e juvenis (21 UI/L; 19 UI/L; e 19 UI/L respectivamente), porém sem uma diferença significativa estatisticamente.

Surpreendentemente, ocorreu um aumento significativo dos níveis de GGT em amostras congeladas a –20/-80°C durante 60 dias. Por se tratar de uma enzima, uma diminuição era esperada, porém houve um aumento de 23% dos níveis de GGT do lote 01 em relação ao lote 02.

4.2.18 Ferro Sérico

A maioria do ferro encontrado nos mamíferos está limitada à hemoglobina, mioglobina e proteínas dos citocromos. O ferro restante também está ligado por outras proteínas de ligação (transferrina, lactoferrina e ferritina) ou estão presentes em pequenas quantidades na sua forma livre. Em animais domésticos, mudanças séricas de ferro têm sido usadas como indicadoras de inflamação (Bossart *et al*., 2001). Em golfinhos, a queda dos níveis de ferro foi encontrada em condições que evolviam traumas, parasitismo, doenças infecciosas e desajustes metabólicos (Medway e Geraci, 1986).

Os botos vermelhos do presente estudo tiveram níveis séricos de ferro bem mais elevados (quase 3 vezes maior) que botos vermelhos mantidos em cativeiro analisados por Ridgway *et al*. (1970) (158 µg/dl e 54 µg/dl respectivamente). Da mesma forma que o cálcio, os níveis séricos de ferro podem estar mais baixos em animais mantidos em cativeiro com uma alimentação inadequada, como observado em peixes-bois da Amazônia (*Trichechus inunguis*) (Rosas *et al*., 1999).

St Aubin *et al*. (2001) perceberam que baleias belugas imaturas têm níveis de ferro mais baixos que os adultos da mesma espécie (apenas as fêmeas foram levadas em consideração em função do pequeno número de amostras de machos adultos). Os filhotes de boto vermelho também apresentaram as menores médias, seguidos dos juvenis e adultos, porém sem uma diferença significativa entres as classes etárias (153 µg/dl; 146 µg/dl e 145 µg/dl, respectivamente).

Asper *et al*. (1990) notaram que as fêmeas de golfinhos nariz-de-garrafa mantidas em cativeiro têm níveis de ferro plasmático mais elevados que os machos da mesma espécie (178 µg/dl e 132 µg/dl, respectivamente). Da mesma forma, Goldstein *et al*. (2006) observaram em uma população de golfinhos nariz-de-garrafa de vida livre, que as fêmeas têm médias mais elevadas quando comparadas aos machos. Neste estudo, no entanto, não

foram encontradas diferenças entre os níveis de ferro de machos e fêmeas de boto vermelho (144, 58 µg/dl e 153,50 µg/dl).

Quando congelado, verifica-se que houve uma queda de 47% (de 148 µg/dl no lote 01 para 70 µg/dl no lote 02) dos níveis de ferro no plasma das amostras estocadas em freezer por 60 dias. Dessa forma, os resultados das analises de soro estocadas em freezer por 60 dias ou mais devem ser consideradas com muita cautela já que apresentam redução drástica dos níveis de ferro.

4.3 FREQÜÊNCIA CARDÍACA E RESPIRATÓRIA

No ambiente natural, os mamíferos aquáticos encontram fatores estressantes diariamente. Predadores, agressões intraespecíficas, e até mesmo aspectos das suas atividades normais como, mergulhos prolongados, são desafios significantes para manter a homeostase, e podem promover estados de estresse (Bossart *et al*., 2001).

Um grande desafio em se estudar estresse em mamíferos aquáticos, ou qualquer outra espécie selvagem, está na obtenção de dados que representem um estado normal ou de "não estresse". A captura, contenção, e colheita de amostras são procedimentos reconhecidamente estressantes e podem influenciar nos resultados (Bossart *et al*., 2001).

Os botos vermelhos aparentemente mais estressados durante a manipulação apresentaram maiores freqüências cardíacas e respiratórias. Numa tentativa de se relacionar este aumento do estado de estresse (aumento da freqüência cardíaca e respiratória) às variações dos parâmetros sangüíneos, utilizou-se o teste de correlação de Spearman (r). Uma correlação positiva entre a freqüência respiratória e o número de leucócitos foi encontrada. Porém, o aumento do número de leucócitos sozinho, não pode ser interpretado como um sinal de estresse, já que filhotes, por exemplo, têm maior número destas células em função de seu sistema imunológico "imaturo", possui uma atividade metabólica mais elevada e sua freqüência respiratória é naturalmente mais elevada. Um maior número de leucócitos juntamente com a freqüência respiratória mais alta dos filhotes contribuiu para que ocorresse uma correlação positiva entre estes dois fatores.

5. SÍNTESE DE RESULTADOS E CONCLUSÕES

Poucas diferenças ocorreram entre machos e fêmeas de boto vermelho de vida livre. Apenas a concentração hemoglobínica corpuscular média (CHCM) e a atividade sérica da fosfatase alcalina foram diferentes entre os sexos, ambos mais elevados nos machos.

Quando as diferenças entre as classes etárias foram aparentes, os valores foram quase que invariavelmente maiores nos filhotes por estarem em alta atividade metabólica associada ao crescimento e adaptação às condições ambientais. Apenas a velocidade de hemossedimentação e a porcentagem de eosinófilos foram maiores nos adultos. A maior porcentagem de eosinófilos nos adultos pode ser reflexo de uma carga parasitária maior.

Animais jovens, em fase de crescimento, apresentaram caracteristicamente maiores níveis de cálcio e atividade sérica de fosfatase alcalina, elementos associados ao desenvolvimento contínuo dos ossos. Os filhotes também apresentaram maior atividade sérica da creatina quinase (CK) e porcentagem de linfócitos.

Fêmeas prenhes apresentaram caracteristicamente níveis séricos mais elevados de quatro elementos envolvidos no metabolismo energético: albumina, amilase, colesterol e triglicérides; e também de uréia, provavelmente como resultado de um maior consumo de alimento para suprir as demandas energéticas durante o estado de prenhez.

Houve alteração em 13 dos 19 elementos estudados após o congelamento do soro por 60 dias. Como esperado, algumas enzimas apresentaram um decréscimo significativo de suas atividades séricas, são elas: Aspartato transaminase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e fosfatase alcalina. Os níveis séricos de albumina, cálcio, colesterol, ferro, glicose, magnésio e uréia também apresentaram um decréscimo significativo. Já os níveis de bilirrubina indireta, bilirrubina total e atividade sérica da gama glutamil transferase (GGT) apresentaram-se maiores no segundo lote.

Um maior número de leucócitos dos filhotes, juntamente com uma freqüência respiratória naturalmente mais alta, contribuiu para que ocorresse uma correlação positiva

entre estes dois fatores. Observou-se, portanto, que a elevação do número de leucócitos juntamente com o aumento da freqüência respiratória não pode ser interpretado como sinal de estresse.

Os resultados do presente estudo podem subsidiar medidas no que diz respeito à conservação e manejo do boto vermelho (*Inia geoffrensis*) no ecossistema amazônico. Além disso, os índices hematológicos e séricos dos elementos bioquímicos observados no boto vermelho de vida livre, podem servir como parâmetros ideais para animais mantidos em cativeiro.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados do presente estudo representam a mais completa análise hematológica realizada com uma espécie mamífero aquático seja de vida livre ou não, do Brasil, e os dados aqui apresentados promoverão uma consistente referência para futuros estudos, não só com a população da Reserva de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá, mas como de toda Amazônia.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Andersen, S. 1966. Physiological adaptations in diving vertebrates. Physiol. Rev. 46,212

Asper, E.D.; Cornell. L.H.; Duffield, D.A.; Odell, D.K.; Joseph, B.E.; Stark. B.I.; Perry, C.A. 1990. Hematology and serum chemistry values in the bottlenose dolphins. In: Leatherwood, S.; Reeves, R.R. The bottlenose dolphin. Academic Press, San Diego, California, EUA, p.479-485

Ayres, J.M. 1994. A implantação de uma unidade de conservação em área de várzea: a experiência de Mamirauá. Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, 403p.

Bain, Bárbara J. 2004. Células Sangüíneas – Um Guia Prático. 3 ° ed. Trad. Renato Failace. Artmed, Porto Alegre, RS, 437p.

Best, R.C.; da Silva, V.M.F. 1993. *Inia geoffrensis*. Mamm. Species, No. 426: 1-8

Best, R.C.; da Silva, V.M.F. 1984. Preliminary analysis of reproductive parameters of the boutu, *Inia goeffrensis*, and the tucuxi, *Sotalia fluviatilis*, in the Amazon River System. In: Reproduction in whales, dolphins and porpoises: Reports of the International Whaling Comission – Special Issue 6, La Jolla, California, 28 November-7 December, 1981. 495 p.

Bogdanova, L.N.; Lebedev, V.G. 1973. Some clinical indexes of the blood of black sea dolphins. In: Morphology and Ecology of Marine Mammals – Seals, Dolphins, Porpoises. Chapskii, K.K.; Sokolov, V.E. Ed Halsted Press Book, Nova Iorque, EUA, p.184-189

Bossart, G.D.; Reidarson, T.H.; Dierauf, L.A.; Duffield, D.A. 2001. Clinical Pathology. In: Handbook of marine mammal medicine. Dierauf, L.A.; Gulland, F.M.D. 2nd ed. CRC Press LCC, Boca Ratón, Florida, EUA, p. 383-436

Castellini, J.M.; Meiselman, H.J.; Castellini, M.A. 1996. Understanding and interpreting hematocrit measurements in pinnipeds. Mar. Mamm. Sci., 12(2): 251-264

Colares, E.P.; Best, R.C. 1990. Blood parameters of Amazon otters (*Lutra longicaudis*, *Pteronura brasiliensis*) (Carnivora, Mustelidae), Comp. Biochem. Physiol. 99A(4): 513-515

Colares, E.P.; Colares, I.G.; do Amaral, A.D.P. 1992. Parâmetros bioquímicos do peixe-boi da Amazônia (*Trichechus inunguis*; Mammalia: Sirenia). Peixe-boi, No 1: 19-23

Cornell, L.H. 1983. Haematology and clinical chemistry values in the killer whale, *Orcinus orca*. J. Wildl. Dis. 19 259-264

Cornell, L.H.; Duffield, D.S.; Joseph, B.E.; Stark, B. 1988. Hematology and serum chemistry values in the beluga (*Delphinapterus leucas*). J. Wildl. Dis. 24(2): 220-224

Dacie, J.V.; Lewis, S.M. 1970. Hematología Práctica. Ediciones Toray, Barcelona, España 536p.

da Silva, V.M.F. 1993. Aspects of the biology of the Amazonian dolphins genus *Inia* and *Sotalia fluviatilis*. Thesis submitted for the degree of Doctor of Philosophy, University of Cambridge, St John's College, England. 327 p.

da Silva, V.M.F. 2004. Conservação de golfinhos da Amazônia: Ameaças e perspectivas. In: História natural, ecologia e conservação de algumas espécies de plantas e animais da Amazônia. Ed. da Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM, p. 313-320

da Silva, V.M.F.; Martin, A. R. 2000. A study of the boto, or Amazon river dolphin (*Inia geoffrensis*), in the Mamirauá Reserve, Brazil: operation and techniques, biology and conservation of freshwater cetaceans in Asia. No 23: 121-131

De Monte, T; Pilleri, G. 1979. Cetacean Hematology – I Hemoglobin. In: Investigations on Cetacea. Pilleri G. Berne, Brain Anatomy Institute, Suíça (10):277-288

De Monte, T; Pilleri, G. 1982. Cetacean Hematology – III Plasma Proteins. In: Investigations on Cetacea. Pilleri G. Berne, Brain Anatomy Institute, Suíça (14):97-229

De Monte, T; Pilleri, G. 1984. Cetacean Hematology – IV Substrates, Enzymes, Eletrolytes and other Organic and Mineral Substances Present in the Circulation. In: Investigations on Cetacea. Pilleri G. Berne, Brain Anatomy Institute, Suíça (16):82-121

Delaney, J.W.; Garratty, G. 1969. Handbook of haematological and blood transfusion techniques. Whitefriars Press, London and Tonbridge, Great Britain. 422p.

Fraser, C.M. 1991. Manual Merk de Veterinária: um manual de diagnóstico, tratamento, prevenção e controle de doenças para o veterinário. Editora Roca, São Paulo, Brasil. 1803p.

Garcia-Navarro, C.E.K.; Pachaly, J.R. 1994. Manual de hematologia veterinária. Livraria Varela, São Paulo, Brasil. 169p.

Gales, N.J. 1972. Mass stranding of striped dolphin, *Stenella coeruleoalba*, at Augusta, Western Australia: Notes on clinical pathology and general observations. J. Wildl. Dis., 28: 651-655

Geraci, J.R. 1986. Nutrition and nutricional disorders. In: Zoo and wild animal medicine. Ed Fowler, M. E. Saunders, Philadelphia, Pennsylvania, EUA p.760-764.

Geraci, J.R.; Medway, W. 1974. Changes in hematology and chemistry during blood and plasma storage. In: Simulated field blood studies in the bottle-nosed dolphin *Tursiops truncatus*. J. Wildl. Dis. (10): 410-419.

Guerra-Shinohara, E. M. 1996. Estudo de proteínas da membrana eritrocitária de mamíferos de treze ordens da Classe Mammalia. Tese de doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo, SP. 118p.

Golstein, J.D.; Reese, E.; Reif, J.S.; Varela, R. A.; McCulloch, S.D.; Defran, R.H.; Fair, P.A.; Bossart, G.D. 2006. Hematologic, biochemical and cytologic findings from clinically healthy Atlantic bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) inhabiting the Indian River Lagoon, Florida. In: Health assessment of bottlenose dolphins in the Indian River Lagoon, Florida and Charleston, South Carolina. 16 th Biennial conference on the biology of marine mammals, San Diego, California, p. 12-14

González, F.H.D.; Scheffer, J.F.S. 2001. Perfil sangüíneo: uma ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. In: Avaliação metabólico-nutricional de vacas leiteiras por meio de fluídos corporais (sangue, leite, urina). González, F.H.D. ed. Biblioteca setorial da faculdade de medicina veterinária da UFRGS, Porto Alegre, Brasil, p. 5-17

Goulding, M.; Barthem, R.; Ferreira. 2003. Diverse dimensions. In: The Smithsonian atlas of the Amazon. Smithsonian Books, Washington e Londres p. 15-22

Hamilton, H.; Caballero, S.; Collins, A.G.; Brownell Jr, R.L. 2000. Evolution of river dolphins. Proc R. Lond. B, 268: 549-556

Hawkey, C.M. 1975. Comparative mammalian haematology – cellular components and blood coagulation of captive wild mammals, Whitefriars Press, London and Tonbridge, Great Britain. 310p.

Hunter, L.; Madin, S.H. 1978. Clinical blood values of the northern fur seal *Callorhinus ursinus*. II. Comparison of fresh versus stored frozen serum. J. Wildl. Dis., 14: 116-119.

Kjelf, M. 2001. Concentration of electrolytes, hormones, and other constituents in fresh postmortem blood and urine of fin whales (*Balaenoptera physalus*). Can. J. Zool., 79 (3): 438-446

Keer, M.G. 2003. Exames laboratoriais em medicina veterinária: Bioquímica clínica e hematologia. Editora Roca, São Paulo, SP, 436p.

Koopman, H.N.; Westgate, A.J.; Read, A.J., Gaskin, D.E. 1995. Blood chemistry of wild harbor porpoise *Phocoena Phocoena* (L.), Mar. Mamm. Sci., 11(2): 123-133

Koopman, H.N.; Westgate, A.J.; Read, A J. 1999. Hematology values of wild harbor porpoises (*Phocoena Phocoena*) from the Bay of Fundy, Canada. Mar. Mamm. Sci., 15 (1): 52-64

Kuiken, T. 1985. Influences of diet, gestation and age on haematology and plasma chemistry of the harbour seal, *Phoca vitulina*. Aquat. Mammals 11 (2):40p.

Lima, A.O.; Soares, J.B.; Greco, J.B.; Galizzi, J.; Cançado, J.R. 1992. Métodos de laboratório aplicados à clínica – Técnica e Interpretação. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, RJ, 638p.

Lenfant, C. 1969. Physiological properties of blood of marine mammals. In: The biology of marine mammals. Anderson, H.T. Academic Press, New York, p. 95-116

Mac Neill, A.C. 1975. Blood values for some captive cetaceans. Can. Vet. Jour., 16(70): 187-193

Martin, A.R.; Smith, T.G.; Cox, O.P. 1998. Dive form and function in belugas *Delphinapterus leucas* of the eastern Canadian High Arctic. Polar Biology 20 (3): 218-228

Martin, A.R. 1990. River dolphins. In: Whales and Dolphins. Salamander Books Limited, London, United Kingdom, p.179-187

Martin, A.R.; da Silva, V.M.F. 2004. Number, seasonal movements, and residency characteristics of river dolphins in an Amazonian floodplain lake system. Can. J. Zool. 82: 1307-1315

Martin, A.R.; da Silva, V.M.F. 2006. Sexual dimorphism and body scarring in the boto (Amazon river dolphin) *Inia geoffrensis*. Mar. Mamm. Sci., 22(1): 25-33

McConnel, L.C.; Vaughan, R.W. 1983. Some blood values in captive and free-living common seals (*Phoca vitulina*), Aquatic Mamm., 10(1): 9-13

Medway, W; Geraci, J. 1964. Hematology of the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*). Amer. J. Physiol., 207 (6): 1367-1370

Medway, W.; Rathbun, G.B.; Black, D.J. 1976. Hematology of the West Indian manatee (*Trichechus manatus*). Veterinary Clinical Pathology, 11(2): 11-15

Medway, W.; Bruss, M.L.; Bengtson, J.L.; Black, D.J. 1982. Blood chemistry of the West Indian manatee (*Trichechus manatus*). J. Wildl. Dis., 18(2): 229-234

Medway, W.; Geraci, J.R. 1986. Clinical pathology of marine mammals. In: Zoo and wild animal medicine. Fowler, M.E. W.B. Saunders, Philadelphia, 791p.

O'Shea, T.J.; Randall, R.R.; Alison, K.L. 1999. Marine mammal commission. Marine mammals and persistent ocean contaminants: Proceeding of the marine mammal commission workshop, Keystone, Colorado, 12-15 October, 1998, 150p.

Rebar, A.H.; Mac Williams, P.S.; Feldman, B.F.; Metzger F.L., Pollock R. V. H.; Roche, J. 2005. Lymphocytes: Overview, quantity, morphology. In: A Guide to hematology in dogs and cats. Teton NewMedia, Jackson WY (www.veterinarywire.com), Internacional Veterinary Information Service, Nova Iorque, EUA.

Reidarson, T.H., Duffield, D.; McBain, J. 2000. Normal hematology of marine mammals. In: Schalm's veterinary hematology. Feldman, B.F.; Zinkl, J.G.; Jain, N.C. ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, p. 1164-1173

Ridgway, S.H.; Simpson, J.G.; Patton, G.S.; Gilmartin, W.G. 1970. Hematologic findings in certain small cetaceans. J.A.V.M.A. 157(5): 566-575

Ridgway, S.H. 1972. Homeostasis in the aquatic environment. In: Mammals of the Sea: Biology and Medicine. S.H. Ridgway ed. Charles C Thomas-Publisher, Illinois, p.590-747

Rosas, F.C.W.; Lehti, K.K,; Marmontel, M. 1999. Hematological indices and mineral content of serum in captive and wild Amazonian manatees, *Trichechus inunguis*. Arq.ciên.vet.zool. UNIPAR, 2(1): 37-42

Santos, L.C. 1999. Laboratório Ambiental. Edunioeste, Cascavel, Paraná, Brasil. 341p.

Shalm, O.W.; Jain, N.C.; Carroll, E.J. 1975. Veterinary Hematology. 3rd ed. Lia & Febiger, Philadelphia, USA, 807 p.

St Aubin, D.J.; Austin, T.P.; Geraci, J.R. 1979. Effects of handling stress on plasma enzymes in harp seals, *Phoca groenlandica*. J. Wildl. Dis., 15(4): 569-572

St Aubin, D.J., Deguise, S., Richard, P.R., Smith, T.G., Geraci, J.R. 2000. Hematology and plasma chemistry as indicators of health and ecological status in beluga whales, *Delphinapterus leucas*. *Artic* 54 (3): 317-331.

Trites, A.W.; Donnelly, C.P. 2003. The decline of Steller sea lions *Eumetopias jubatus* in Alaska: a review of the nutritional stress hypothesis. Mammal Rev. (1): 3-28

Williams, T.D.; Pulley, L.T. 1983. Hematology and blood chemistry in the sea otter (*Enhydra lutris*). J. Wildl. Dis., 19(1):44-47

Zar, J. H. 1999. Biostatistical analysis. 4th ed. Upper Saddle River: Prentice Hall, 663p.

Livros Grátis

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

Milhares de Livros para Download:

Baixar livros de Administração
Baixar livros de Agronomia
Baixar livros de Arquitetura
Baixar livros de Artes
Baixar livros de Astronomia
Baixar livros de Biologia Geral
Baixar livros de Ciência da Computação
Baixar livros de Ciência da Informação
Baixar livros de Ciência Política
Baixar livros de Ciências da Saúde
Baixar livros de Comunicação
Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE
Baixar livros de Defesa civil
Baixar livros de Direito
Baixar livros de Direitos humanos
Baixar livros de Economia
Baixar livros de Economia Doméstica
Baixar livros de Educação
Baixar livros de Educação - Trânsito
Baixar livros de Educação Física
Baixar livros de Engenharia Aeroespacial
Baixar livros de Farmácia
Baixar livros de Filosofia
Baixar livros de Física
Baixar livros de Geociências
Baixar livros de Geografia
Baixar livros de História
Baixar livros de Línguas

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