

**INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA - INPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO DO INPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE ÁGUA
DOCE E PESCA INTERIOR**

**HEMATOLOGIA E BIOQUÍMICA SANGUÍNEA DO PEIXE-BOI DA
AMAZÔNIA, *Trichechus inunguis* (Natterer, 1883)**

Talita Laurie Lustosa do Carmo

MANAUS-AM
2009

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

**INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA - INPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO DO INPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE ÁGUA
DOCE E PESCA INTERIOR**

**HEMATOLOGIA E BIOQUÍMICA SANGUÍNEA DO PEIXE-BOI DA
AMAZÔNIA *Trichechus inunguis* (Natterer, 1883)**

Talita Laurie Lustosa do Carmo

ORIENTADOR: Dr. Fernando César Weber Rosas

CO- ORIENTADORA: Dra. Vera Maria Ferreira da Silva

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

FONTE FINANCIADORA: CNPq e PPG-7
MANAUS-AM
2009

FICHA CATALOGRÁFICA

C287h Carmo, Talita Laurie Lustosa do
Hematologia e bioquímica sanguínea do peixe-boi da Amazônia
Trichechus inunguis (Natterer, 1883) / Talita Laurie Lustosa do
Carmo. -- Manaus : [s.n.], 2009.
xiii, 80 f : il. (algumas color.)

Dissertação (mestrado)--INPA/UFAM, Manaus, 2009.
Orientador: Dr. Fernando César Weber Rosas
Co-Orientadora: Dra. Vera Maria Ferreira da Silva
Área de concentração: Biologia de Água Doce e Pesca Interior

1.Peixe-boi - Amazônia - Fisiologia 2.Peixe-boi - Amazônia -
Hematologia 4. *Trichechus inunguis* I.Título

CDD 19ª ed. 599.55041

SINOPSE

Sinopse: Foi analisada a variação nos parâmetros hematológicos e bioquímicos do sangue de peixe-boi da Amazônia, *Trichechus inunguis*, entre os sexos, diferentes faixas etárias, fêmeas lactantes e filhotes nutridos com diferentes fórmulas lácteas.

Palavras-chave: Hematologia, bioquímica do sangue, *Trichechus inunguis*, fisiologia, variação etária, animais de cativeiro, conservação, Amazônia.

Agradecimentos

Eu sou grata primeiramente à Deus, por ter me dado saúde e aberto várias portas, sem Ele este trabalho não seria possível.

Ao meu pai, Francisco Lustosa, minha mãe, Eloá Vieira e minha irmã, Raema Lustosa por toda a força e todo o apoio que me proporcionaram. Pelos ombros que me ofereceram para eu chorar, por todo o carinho que sempre me deram, pela ajuda financeira na hora do aperto, pelo amor incondicional deles e, simplesmente, por eles existirem e serem as pessoas que eu mais amo neste mundo. Também agradeço à minha avó Geralda Gomes e a outros familiares pelo carinho e apoio que me proporcionaram.

Às minhas grandes amigas goianas, Kellen Regina, Maria Márcia, Mariane e Vivian, que há mais de onze anos sempre estiveram do meu lado como confidentes e companheiras e, sem o apoio delas eu não teria realizado este trabalho.

Aos meus grandes e verdadeiros amigos de graduação e primeiros colegas de república, Vinícius e Paola, que sempre me estimularam a seguir em frente e transmitiram bom humor, alegria e felicidade.

Ao meu Orientador, Dr. Fernando César Weber Rosas, e à minha co-orientadora, Dra Vera Maria Ferreira da Silva por todo o apoio acadêmico que me proporcionaram, por me passarem parte de suas experiências, me ajudarem a achar o caminho a ser traçado e por terem tido paciência com minha falta de experiência algumas vezes.

Aos doutores Elizabeth Gusmão Affonso, Marco Tavares Dias, Vera Maria Fonseca de Almeida e Val e Elton Pinto Colares por revisarem o plano de mestrado.

Aos professores Dr. Ednaldo Nelson dos Santos-Silva e Dr. Sérgio de Melo por oferecem seu laboratório para análise dos dados. À turminha bem humorada que compunha este local.

Ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), pela oportunidade de realização do mestrado, ao Programa Piloto para a Proteção das Florestas Tropicais do Brasil (PPG-7), pelo apoio financeiro às coletas e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa.

À equipe de pós-graduação do BADPI, à Ângela Varella, coordenadora do curso, e suas secretárias Carminha e Elany, salvadoras da pátria nos assuntos acadêmicos. Também sou muito grata à querida Cida, que sempre nos presenteava com um café bem quentinho nos intervalos.

À Stella Maris coordenadora do Centro de Preservação e Pesquisa de Mamíferos Aquáticos (CPPMA), à Manaus Energia (ME), responsável pelo apoio estrutural e financeiro do CPPMA, ao seu Zé Domingos, Kleuson, baixinho e toda a equipe que participou da coleta de dados em Balbina (Amazonas).

À equipe da Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Estado do Amazonas (HEMOAM), seu Moacir, bioquímico responsável, Thiago, Vanessa e toda a equipe, muito simpática, que realizaram os exames e me auxiliaram durante o estágio feito na instituição.

Ao veterinário do Laboratório de Mamíferos Aquáticos (LMA), José Anselmo e à equipe da PREVET, Nildon, Marcelo, Jeová, Nazaré, Raimundo, Daniel e Everton, que ajudaram na colheita de material hematológico e foram o braço forte nesta fase do mestrado.

Aos meus amigos do LMA, Fernanda (foremost friend), Paulinha, Giovanna, Dani, Louzinha, Roberta, Márcia, Nanda, Gália, Gisele, Claryanna, Paulão e Diogo, pelos bons momentos e risos.

À Melina, Paty, Aninha, Carol, Ladis, Carlos e todos meus amigos do BADPI por passarem essa batalha juntos e sem perder o bom humor, as piadinhas e risos, apesar dos obstáculos e saudades da família tão distante.

À Denise e Nicole, minhas amigas, companheiras e colegas de república.

Aos meus antigos colegas de república Arnold, Luíz e Igor que sempre me ajudaram durante neste período, foram excelentes amigos e se tornaram grandes irmãos para mim.

À todos aqueles que de forma direta ou indireta colaboraram para a realização deste trabalho.

Muito Obrigada!!!

Sumário

Resumo.....	xii
Abstract.....	xiii
1. Prólogo.....	1
2. Material e Métodos.....	6
2.1. Colheita de Sangue.....	8
2.2. Análise de Dados.....	9
3. Referências Bibliográficas.....	11
Capítulo I. Parâmetros hematológicos do peixe-boi da Amazônia (<i>Trichechus inunguis</i>).....	14
Resumo.....	14
Abstract.....	15
1. Introdução.....	16
1.1. Hematologia em <i>Trichechus inunguis</i>	19
2. Material e Métodos.....	21
2.1. Hemácias.....	21
2.2. Leucócitos.....	22
2.3. Plaquetas.....	24
3. Resultados.....	25
3.1. Classe etária em machos.....	25
3.2. Classe etária em Fêmeas.....	25
3.3. Machos x Fêmeas.....	28

3.4. Filhotes machos amamentados com leite materno e fórmula láctea artificial.....	31
3.5. Influência da lactação em fêmeas adultas.....	32
4. Discussão.....	34
4.1. Influência etária nos parâmetros hematológicos.....	34
4.2. Influência do sexo nos parâmetros hematológicos.....	36
4.3. Fêmeas lactantes e variações hematológicas.....	37
4.4. Dieta Láctea e parâmetros hematológicos.....	37
5. Referências Bibliográficas.....	39
Capítulo II. Bioquímica sanguínea do peixe-boi da Amazônia (<i>Trichechus inunguis</i>).....	44
Resumo.....	44
Abstract.....	45
1. Introdução.....	46
1.1. Bioquímica sérica em <i>Trichechus inunguis</i>	50
2. Material e Métodos.....	52
2.1. Proteínas séricas.....	52
2.2. Minerais séricos.....	53
2.3. Substâncias lipídicas.....	54
2.4. Enzimas Plasmáticas.....	54
2.5. Substâncias Nitrogenadas e Outros Metabólitos.....	55
3. Resultados.....	57
3.1. Bioquímica do sangue do peixe-boi da Amazônia por classe etária e sexo.....	57

3.2. Bioquímica do sangue de filhotes machos amamentados com leite materno e com fórmula láctea artificial.....	64
3.3. Bioquímica do sangue de fêmeas lactantes.....	67
4. Discussão.....	71
4.1. Influência etária nos parâmetros bioquímicos.....	71
4.2. Influência do sexo nos parâmetros bioquímicos.....	73
4.3. Fêmeas lactantes e variações bioquímicas.....	74
4.4. Dieta láctea e parâmetros bioquímicos.....	74
5. Referências Bibliográficas.....	77
Considerações finais.....	80

Lista de Figuras

Prólogo

Figura 1. Macho juvenil de <i>T. inunguis</i> (Foto: Arquivos LMA/ INPA).....	1
Figura 2. Vista parcial do Parque Aquático Robin C. Best no INPA (Foto: Arquivos LMA/INPA).....	7
Figura 3. Colheita de sangue do plexo venoso braquial de <i>T. inunguis</i> (Foto: Arquivos LMA/INPA).....	8

Capítulo I

Figura 1. Preparação de extensão sanguínea e lâmina corada.....	23
Figura 2. Leitura de amostras hematológicas no aparelho Pentra 120®.....	24
Figura 3. Hematócrito (Ht), hemácias totais (RBC), concentração de hemoglobina (HB), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e volume corpuscular médio (VCM) no sangue de <i>T. inunguis</i> por sexo nas diferentes classes etárias.....	29
Figura 4. Leucócitos totais (WBC), heterófilos, linfócitos, monócitos, eosinófilos e plaquetas (Plt) no sangue de <i>T. inunguis</i> por sexo nas diferentes classes etárias.....	30
Figura 5. Volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e plaquetas (Plt) no sangue de filhotes amamentados com leite materno e com fórmula láctea artificial.....	32
Figura 6. Plaquetas (Plt) no sangue de fêmeas adultas lactantes e não-lactantes de <i>T. inunguis</i>	33

Capítulo II

- Figura 1.** Aparelho Architect C800® Abbott Laboratories – USA de análises bioquímicas. Foto: Daniela M. D. Mello..... **52**
- Figura 2.** Colesterol total, lipídeos totais, globulina, fósforo, fosfatase alcalina e alanina aminotransferase (ALT) no sangue de *T. inunguis* por sexo nas diferentes classes etárias..... **63**
- Figura 3.** Creatinina, bilirrubina total e bilirrubina direta no sangue de *T. inunguis* por sexo nas diferentes classes etárias..... **64**
- Figura 4.** Colesterol total, triglicerídeos, ferro sérico, lactato desidrogenase (DHL) e gama-glutamil transferase (GGT) no sangue de filhotes machos amamentados com leite materno e com fórmula láctea artificial..... **67**
- Figura 5.** Triglicerídeos, bilirrubina total e bilirrubina indireta no sangue de fêmeas adultas lactantes e não-lactantes de *T. inunguis*..... **70**

Lísta de Tabelas

Capítulo I

Tabela 1. Valores hematológicos normais de machos de <i>T. inunguis</i> em cativeiro.....	26
Tabela 2. Valores hematológicos normais de fêmeas de <i>T. inunguis</i> em cativeiro.....	27
Tabela 3. Hematologia de machos lactentes de <i>T. inunguis</i> alimentados com leite materno e com fórmula láctea artificial.....	31
Tabela 4. Valores hematológicos de fêmeas adultas lactantes e não-lactantes em cativeiro.....	33

Capítulo II

Tabela 1. Bioquímica sérica de machos de <i>T. inunguis</i> em cativeiro.....	57
Tabela 2. Bioquímica sérica de fêmeas de <i>T. inunguis</i> em cativeiro.....	60
Tabela 3. Bioquímica sérica de filhotes machos de <i>T. inunguis</i> amamentados com leite materno e fórmula láctea artificial.....	65
Tabela 4. Bioquímica sérica de fêmeas adultas lactantes e não-lactantes de <i>T. inunguis</i> em cativeiro.....	68

Resumo

O peixe-boi da Amazônia é um mamífero aquático pertencente à ordem Sirenia encontrado nos rios da bacia Amazônica, desde a Ilha de Marajó até as cabeceiras dos rios na Colômbia, Peru e Equador. A espécie foi intensamente caçada desde o século XVI e atualmente está ameaçada de extinção. Na década de 70 foram iniciados no Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) estudos com esta espécie em cativeiro. Assim, surgiu a necessidade de um maior conhecimento de suas características fisiológicas para um manejo adequado visando à manutenção da saúde destes animais. Os parâmetros sanguíneos são influenciados pelas condições fisiológicas, variações ambientais que o animal é submetido e são característicos para cada espécie. Eles fornecem informações essenciais sobre o estado de saúde dos animais e é um importante meio para o seu manejo. Os objetivos deste trabalho visaram complementar o conhecimento dos parâmetros sanguíneos do peixe-boi da Amazônia em cativeiro e verificar se ocorrem variações nestes parâmetros entre os sexos, classe etária, lactação e às diferentes fórmulas lácteas oferecidas aos filhotes órfãos. Foram colhidas amostras de sangue de 84 animais cativos no INPA, sendo 43 fêmeas (16 filhotes, 18 juvenis e 9 adultos) e 41 machos (13 filhotes, 15 juvenis e 13 adultos), entre os anos de 1993 e 2008. Estas amostras foram analisadas na Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Estado do Amazonas (Hemoam). Foram encontradas variações hematológicas entre as classes etárias para o total de hemácias do sangue, concentração de hemoglobina, hematócrito, total de leucócitos, heterófilos, eosinófilos, monócitos, volume corpuscular médio e hemoglobina corpuscular média. Para os parâmetros bioquímicos, os níveis séricos de fósforo, creatinina, globulina, fosfatase alcalina, lipídeos totais, colesterol e bilirrubina total também variaram com a idade. Essas variações provavelmente são resultado das alterações que os animais sofrem durante o processo de crescimento e desenvolvimento, como a formação dos ossos e do sistema imunológico. Houve diferença entre os sexos nos parâmetros hemoglobina corpuscular média, concentração de hemoglobina, número total de eosinófilos de machos juvenis, hemácias totais, níveis séricos de fosfatase alcalina, alanina aminotransferase e bilirrubina. Estas diferenças provavelmente foram ocasionadas por influências hormonais devido à maturação sexual. As diferentes fórmulas lácteas oferecidas aos filhotes lactentes afetaram as concentrações de volume corpuscular médio, hemoglobina corpuscular média, plaquetas, uréia, gama-glutamil transferase, ferro, colesterol, triglicerídeos, lactato desidrogenase e bilirrubina. Esta é uma provável evidência de diferença na assimilação do conteúdo protéico, mineral e lipídico entre as dietas oferecidas. A lactação em fêmeas influenciou os níveis séricos de triglicerídeos e bilirrubina, possivelmente devido à participação desses compostos na produção de leite pelo organismo. Neste estudo, foram utilizados apenas peixes-bois considerados saudáveis e, foram analisadas amostras de diferentes indivíduos durante um período de 16 anos. Muitos destes animais foram acompanhados em diferentes fases do seu desenvolvimento através de análises sanguíneas. Desta forma, as análises realizadas são suficientemente robustas para serem utilizadas como valores-referência para o peixe-boi da Amazônia.

Abstract

The Amazonian manatee is an aquatic mammal of the Amazon belonging to the order Sirenia, found in freshwater rivers of the Amazon basin, from Ilha do Marajó to the headwaters of rivers in Colombia, Peru and Ecuador. The species was intensively hunted since the sixteenth century and is currently threatened of extinction. In the 70's were started at the Instituto Nacional de Pesquisas da Amazonia (INPA) studies with this species in captivity. Thus, a need for greater knowledge of their physiological characteristics emerged, for an adequate management aiming the maintenance of these animals' health. These parameters are influenced by physiological, environmental variations that the animal is submitted to and are specific for each species. They furnish essential information about the health status of animals and are an important tool for its management. The purpose of this study were to complement the knowledge of blood parameters of Amazonian Manatee (*Trichechus inunguis*) in captivity and to check if there are differences in these parameters according to age, sex, lactation and milk diet consumed by calves. Blood samples from 84 captive animals were taken at the Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, 43 females (16 calves, 18 juveniles and 9 adults) and 41 males (13 calves, 15 juveniles and 13 adults) between 1993 and 2008. These samples were analyzed at the Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Estado do Amazonas (Hemoam). Variations were found among age groups for total red blood cells, hemoglobin concentration, hematocrit, white blood cells, neutrophils, eosinophils, monocytes, mean corpuscular volume and mean corpuscular hemoglobin. As for the biochemistry parameters, serum levels of phosphorus, creatinine, globulin, alkaline phosphatase, total lipids, cholesterol and total bilirubin changed with age too. This variation probably resulted from the modifications that the organism of the animal undergoes during the process of growth and development, such as the formation of bones and the immune system. Between sexes, differences were observed in mean corpuscular hemoglobin concentration, hemoglobin concentration, total eosinophils of juveniles male, red blood cells, serum levels of alkaline phosphatase, alanine aminotransferase and bilirubin. These differences probably were caused by hormonal influences or due to sexual maturation. The type of nourishment affects the concentration of mean corpuscular volume, mean corpuscular hemoglobin, platelets, urea, gamma glutamyl transpeptidase, iron, cholesterol, triglycerides, lactate dehydrogenase and bilirubin. This is a probable evidence of differences in assimilation of protein, mineral and lipid contents of the diets offered. Lactation in females influence serum levels of triglycerides and bilirubin, possibly due to the participation of these compounds in milk production by the organism. Only manatees considered healthy were used in this study, and samples of different individuals were analysed during the long period of 16 years. Many of these animals were followed in different development phases by blood analysis. Therefore, the data shows robustness and can be used as reference values for the Amazonian manatee.

1. Prólogo

O Peixe- boi da Amazônia (*Trichechus inunguis*)

O peixe-boi da Amazônia (Fig.1) foi incluído na superordem Paenungulata, juntamente com o elefante e o hyrax, devido à semelhança na sequência de aminoácidos da proteína alfa-cristalino de seus olhos (de Jong *et al.*, 1981; de Jong & Goodman, 1982, Kleinschmidt *et al.*, 1986) e pela formação da placenta (Carter *et al.*, 2004; Carter *et al.*, 2008).



Foto: José A. d’Affonsêca

Figura 1 – Macho juvenil de *T. inunguis*. (LMA/ INPA).

Os peixes-bois são mamíferos aquáticos pertencentes à ordem Sirenia, que surgiu há cerca de 60 milhões de anos e possivelmente representam um dos primeiros ramos da linha de mamíferos placentários que ocuparam o ambiente aquático, sendo os únicos a praticarem herbivoria (Best, 1984a). A Ordem Sirenia parece ter alcançado o máximo de sua diversidade no Mioceno, com 12 gêneros conhecidos, contudo, sofreu

um declínio e é representada hoje por apenas duas famílias com representantes viventes, Dugongidae e Trichechidae (Domning, 1981). A família Dugongidae está representada pelo dugongo (*Dugong dugon*), único representante vivente desta família (Marsh *et al.*, 1986). A família Trichechidae é composta por três espécies de peixes-bois: *Trichechus senegalensis*, conhecida como peixe-boi africano; *Trichechus manatus*, o peixe-boi marinho e *Trichechus inunguis*, o peixe-boi da Amazônia.

Dentre os sirênios, o peixe-boi da Amazônia é o único restrito a água doce e endêmico da Bacia Amazônica, sendo encontrado desde a Ilha de Marajó até as cabeceiras dos rios na Colômbia, Peru e Equador (Domning 1981; Best, 1984b; Rosas, 1994). Presente em todos maiores tributários do sistema de drenagem da bacia amazônica, sua distribuição é determinada principalmente pela disponibilidade de alimento, correnteza e turbulência das águas (Best, *op. cit.*). *T. inunguis* é o menor dentre os sirênios viventes, alcançando no máximo 2,8 m de comprimento total e até 450 kg de peso, não apresentando diferenças significativas no tamanho entre machos e fêmeas (Rosas, 1991; Rosas, 1994). Sua pele é lisa, com coloração variando geralmente de cinza escuro a preto, apresentando na maioria vezes uma mancha branca ou rosada, na região ventral. Uma característica exclusiva dessa espécie é a ausência de unhas em suas nadadeiras peitorais (Rosas, 1994). Sendo totalmente herbívoros, os peixes-bois se alimentam de uma ampla variedade de macrófitas aquáticas (Best, 1981) e retêm características primitivas tais como um metabolismo basal extremamente baixo, cerca de 36% inferior àquele esperado para um mamífero placentário de porte semelhante (Gallivan & Best, 1980).

O peixe-boi da Amazônia é um animal dócil, com pouca produtividade de filhotes e utilizado na dieta de povos indígenas e caboclos ribeirinhos da região. Historicamente, essa espécie foi intensamente caçada, principalmente no início da colonização do Brasil pelos portugueses, sendo sua carne exportada desde o século XVI para a Europa (Domning, 1982). Hoje em dia, embora a caça desta espécie seja ilegal, a carne do peixe-boi ainda é muito apreciada pelos moradores da região amazônica. Além disso ela é ilegalmente comercializada em feiras e mercados livres da região (Rosas & Pimentel, 2001), sendo geralmente consumida na forma de mixira (produto constituído por pedaços de carne fritos na gordura do próprio animal e armazenado em sua banha).

Entre 1935 e 1954, seu couro também foi explorado industrialmente para a produção de correias para máquinas, mangueiras e cola (Nunes-Pereira, 1944; Best, 1984b). Durante esse período de vinte anos, provavelmente foram mortos entre 80.000 e 140.000 peixes-bois, sem considerar a caça de subsistência nas áreas mais remotas da Amazônia (Domning, 1982). O uso do couro na indústria foi reduzido devido à introdução de materiais sintéticos (Best, 1984b) e à dificuldade na captura de indivíduos. No final da década de sessenta, o peixe-boi da Amazônia foi declarado como espécie em extinção e passou a ser protegido por lei no Brasil, Peru e Colômbia (Rosas, 1994). Atualmente, a caça do peixe-boi é proibida por lei em duas áreas de proteção no Equador, duas na Colômbia, quatro no Peru e vinte e três no Brasil (Marmontel, 2008; da Silva *et al.*, 2008). A dificuldade no controle de sua caça ocorre em consequência da grande extensão da área de drenagem da bacia amazônica que possui várias regiões remotas e de difícil acesso (Best, *op. cit.*). A captura em larga escala de *T. inunguis* para o uso comercial foi, sem dúvida, a principal razão da redução da população desta espécie. Entretanto, atualmente, a destruição de seu habitat tem sido outra importante causa para o declínio da população de peixes-bois (Rosas *et al.*, 1991). Um exemplo disso são as inúmeras atividades antrópicas, que causam poluição nos rios como a introdução de mercúrio no ambiente proveniente da exploração de ouro (garimpagem); liberação de agrotóxicos oriundos de plantações; atividades de exploração de gás e petróleo; liberação de efluentes industriais; construção de usinas hidrelétricas e o intenso tráfego de navios nos rios amazônicos (Rosas, *op.cit.*).

O estudo do peixe-boi da Amazônia em seu habitat natural é dificultado devido ao seu comportamento discreto e à baixa transparência das águas da maioria dos rios da bacia amazônica (Rosas & Pimentel, 2001). Em 1974, no Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), iniciou-se o Projeto Peixe-Boi com o objetivo de obter informações sobre a biologia da espécie e implementar um efetivo programa de conservação (Best, *op. cit.*). O instituto recebe, em sua maioria, filhotes órfãos resgatados de apreensões realizadas pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) que necessitam de cuidados contínuos e reabilitação. A manutenção de peixes-bois em cativeiro no INPA possibilitou o

desenvolvimento de vários estudos, como por exemplo, sobre a fisiologia (Gallivan & Best, 1980; Gallivan *et al.*, 1983; Gallivan *et al.*, 1986) da espécie.

O hábito de vida do peixe-boi também foi mais claramente entendido nas últimas décadas, por meio da técnica de rádio-telemetria (Montgomery *et al.*, 1981; Best *et al.*, 1982; Arraut *et al.*, 2005), tornando possível um acompanhamento constante dos animais em seu ambiente natural com o auxílio de observações de campo. Com esse método observou-se, entre outros aspectos, que esses animais apresentam hábito noturno e diurno, preferem locais com vegetação flutuante para se alimentar e migram de acordo com o regime de cheia dos rios da região.

De maneira análoga ao que ocorre com as demais espécies de plantas e animais da Amazônia, a marcante sazonalidade do sistema de drenagem na bacia amazônica rege também o ciclo de vida dos peixes-bois. Durante o período de enchente/cheia ocorre um acentuado crescimento de macrófitas aquáticas nas áreas de várzeas e igapós (áreas de inundação) (Junk, 1970), que levam os peixes-bois a se dispersarem para essas áreas para alimentação (Best, 1984b). Durante a estação vazante/seca, quando o nível da água diminui rapidamente, os peixes-bois migram para os canais de água mais profundos ou lagos de terra firme, podendo passar um extenso período sem encontrar alimento (Best, 1983). Para suportar isto, possivelmente os peixes-bois possuem um ceco desenvolvido (Best, 1981) que absorve o teor energético do alimento ingerido, e que é armazenado na forma de uma extensa camada de gordura corporal. Em decorrência de sua baixa taxa metabólica, essas reservas de energia são úteis durante a estação seca, permitindo a sobrevivência destes animais durante o período de jejum (Best, 1984b). É neste período, quando está limitado a corpos de água menores (lagos e canais profundos de rios), que o peixe-boi se torna mais vulnerável à caça (Best, 1982; Rosas, 1994).

A manutenção de peixes-bois em cativeiro tem possibilitado o avanço de vários estudos com esses animais. No entanto, a criação adequada desses indivíduos em cativeiro depende do conhecimento das características fisiológicas da espécie. Dessa forma, a saúde é um fator que necessita ser monitorado continuamente, o que pode ser feito mediante análise dos parâmetros sanguíneos. O sangue é um importante componente para o organismo dos vertebrados. Ele funciona como meio de transporte

dos nutrientes adquiridos na alimentação, transporte e difusão do oxigênio para as células, imunidade do organismo e proteção contra eventuais patologias. Em razão disto, é necessário o conhecimento aprofundado dos seus parâmetros e dos valores considerados normais para a espécie.

A eficiência e a praticidade atual das análises hematológicas têm ajudado no diagnóstico de patologias, carências nutricionais e qualquer outra anormalidade, facilitando a escolha do cuidado e do tratamento que o animal necessita. Portanto, o estabelecimento dos valores padrão para os parâmetros sanguíneos do peixe-boi da Amazônia são importantes para o manejo da espécie.

Este estudo teve como objetivo caracterizar os parâmetros hematológicos e bioquímicos do sangue do peixe-boi da Amazônia (*Trichechus inunguis*) em cativeiro com o intuito de estabelecer valores-referência para a espécie. Os objetivos específicos foram verificar a ocorrência de variações significativas no hemograma e níveis bioquímicos plasmáticos entre os sexos e entre as diferentes faixas etárias; comparar os parâmetros sanguíneos entre filhotes machos amamentados com leite materno e filhotes machos amamentados com fórmula láctea artificial; comparar os parâmetros sanguíneos entre fêmeas lactantes e fêmeas não-lactantes e fornecer subsídios para diagnosticar eventuais patologias ou carências nutricionais.

2. Material e Métodos

Este estudo foi realizado com peixes-bois mantidos em cativeiro no Parque Aquático Robin C. Best do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) (Fig. 2) e do Centro de Preservação e Pesquisas de Mamíferos Aquáticos (CPPMA) da Manaus Energia S.A., na vila de Balbina, município de Presidente Figueiredo (AM). Definiram-se três grupos de classes etárias: filhotes (animais em período de amamentação, 0 a 2 anos), juvenis (animais em período de desenvolvimento sexual, 3 a 8 anos) e adultos (animais em fase reprodutiva, acima de 8 anos). Foram colhidas amostras de sangue de 84 peixes-bois, sendo 43 fêmeas (16 filhotes, 18 juvenis e 9 adultos) e 41 machos (13 filhotes, 15 juvenis e 13 adultos), entre os anos de 1993 e 2008. Para a contagem diferencial de leucócitos foram utilizadas as amostras de sangue colhidas nos meses de janeiro, abril e maio de 2008, totalizando 59 amostras, sendo 32 de fêmeas (7 filhotes, 15 juvenis e 10 adultos) e 27 de machos (9 filhotes, 9 juvenis e 9 adultos).

Foram feitas amostras de sangue de 3 fêmeas lactantes e comparadas com amostras de 10 fêmeas não-lactantes.

Utilizaram-se amostras de sangue de 3 filhotes machos amamentados com leite materno que foram comparadas com amostras de 15 filhotes amamentados com fórmula láctea artificial. As diferentes fórmulas lácteas artificiais desenvolvidas no LMA/INPA (Rodríguez-Chacón, 2001; Rodríguez-Chacón *et al.*, 1999) utilizadas na alimentação de filhotes lactentes foram:

Fórmula 1:

Leite de vaca em pó integral, de diversas marcas, 120 g; manteiga de leite de vaca sem sal, 20 g; melão, 40 g; gema de ovo de galinha cozido, proveniente de granja comercial; água, 1000 ml e 15 ml de suplemento vitamínico Poliplex[®] (Vitamina A, 2500 UI; vitamina D, 200 UI; B1 (tiamina), 0,75g; B2 (riboflavina), 0,85 mg; B6 (piridoxina), 1,00 mg; vitamina C, 32,50 mg; nicotinamida, 10,00mg; glicerofosfato de cálcio, 150,00 mg; sulfato ferroso, 20,00 mg; sulfato de cobre, 1,50 mg; sulfato de manganês, 1,25 mg; sulfato de magnésio, 1,25 mg e sulfato de zinco, 1,25 mg).

Fórmula 2:

Leite de vaca em pó integral, de diversas marcas, 120 g; óleo de canola, 20 ml; água, 1000 ml e 15 gramas de suplemento vitamínico Aminomix[®] (Proteína Bruta (mín) - 6,23%; Extrato Etéreo (mín) - 0,70%; Matéria Fibrosa (máx) - 8,56%; Matéria Mineral (máx) - 81,65%; Umidade (máx) - 3,54%; Vitamina A - 500.000 U.I.; Vitamina B1 - 180 mg; Vitamina B2 - 150 mg; Vitamina B6 - 70 mg; Vitamina B12 - 800 mcg; Vitamina C - 150 mg; Vitamina D3 - 100.000 U.I.; Vitamina E - 600 U.I. Biotina - 12 mg; Pantotenato de Cálcio - 400 mg; Ácido Fólico - 60 mg; Ácido Aspártico - 2.120 mg; Ácido Glutâmico - 3.512 mg; Nicotinamida - 600 mg; L-Lisina - 20 g; Lisina - 1.880 mg; DL-Metionina - 10 g; Metionina - 284 mg; Colina - 5.000 mg; Arginina - 1.576 mg; Glicina - 8.840 mg; Triptofano - 182 mg; Histidina - 280 mg; Treonina - 280 mg; Serina - 320 mg; Prolina - 5.560 mg; Hidroxiprolina - 3.304 mg; Alanina - 3.516 mg; Cisteína - 144 mg; Valina - 876 mg; Isoleucina - 380 mg; Leucina - 876 mg; Tirosina - 120 mg; Fenilalanina - 624 mg; Ferro - 1.300 mg; Cobalto - 120 mg; Cobre - 1.750 mg; Zinco - 2.450 mg; Manganês - 500 mg; Selênio - 6 mg; Magnésio - 8 g; Iodo - 30 mg; Enxofre - 8 g; Flúor - 670 mg; Cálcio-267 g e Fósforo, 67 mg).

Os peixes-bois se alimentavam em geral de três a quatro litros de leite por dia. O primeiro litro continha todos os elementos das fórmulas, os outros continham apenas o leite a água e o derivado lipídico utilizado.



Figura 2 – Vista parcial do Parque Aquático Robin C. Best no INPA (Foto: Arquivos LMA/INPA).

2.1. Colheita de Sangue

As amostras de sangue foram colhidas no período da manhã, utilizando scalpels 19G. O sangue foi coletado do plexo venoso braquial, situado na base ventral da nadadeira peitoral (Fig. 3), ou da veia de fluxo ventral, sendo o primeiro local o mais indicado (Rosas *et al.*, 1999). Em seguida, foi homogeneizado com anticoagulante. Foram colhidos 5 ml de sangue para as análises hematológicas e 5 ml para as análises bioquímicas de cada animal. O sangue colhido para as análises hematológicas foi acondicionado em tubos Vacutainer[®] de 5 ml, com o anticoagulante EDTA (ácido etilenodiamino tetracético), na concentração de 1,0 a 2,0 mg/ml de sangue. O EDTA atua impedindo as propriedades de adesividade e a agregação das plaquetas, deixando as células isoladas e com distribuição uniforme, facilitando a contagem celular (Dacie & Lewis, 1970). Esse anticoagulante foi escolhido por ser um dos mais eficientes (Schalm *et al.*, 1975). Para as análises bioquímicas, o sangue foi acondicionado em tubos Vacutainer[®] de 5 ml sem anticoagulante. As amostras foram analisadas em seguida ou armazenadas em refrigerador, por no máximo sete horas, para a determinação dos parâmetros hematológicos e bioquímicos. Para se estabelecer os valores-referência foi utilizado apenas o sangue de animais saudáveis. Foram considerados saudáveis os peixes-bois que se alimentavam normalmente, não apresentavam lesões, processos infecciosos, sinais de deficiência nutricional e não estavam recebendo medicamento.



Figura 3. Colheita de sangue do plexo venoso braquial de *T. inunguis* (LMA/INPA).

2.2. Análise de Dados

Para estabelecer a faixa de normalidade dos parâmetros hematológicos de filhotes, juvenis e adultos de ambos os sexos foi utilizada estatística descritiva (média e desvio padrão).

✓ Comparação entre machos e fêmeas e entre as faixas etárias: Utilizou-se a análise de variância de duas vias, sendo realizado o teste *a posteriori* de Tukey para os parâmetros que sofreram variações significativas entre as faixas etárias.

Hematologia

Análise de variância de duas vias e teste de tukey: Hematócrito, volume celular médio, concentração de hemoglobina, hemoglobina celular média, concentração de hemoglobina celular média, plaquetas, volume de plaquetas médio, heterófilos, linfócitos, eosinófilos e monócitos.

Bioquímica

Análise de variancia de duas vias: Glicose, triglicerídeos, lactato desidrogenase, gama-glutamil transferase, cálcio, fósforo, creatinina, colesterol, alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase, fosfatase alcalina, amilase, sódio, potássio, bilirrubina total, bilirrubina direta e bilirrubina indireta.

Teste de tukey: creatinina, colesterol, alanina aminotransferase, bilirrubina total, bilirrubina direta, fosfatase alcalina, fósforo, sódio e potássio.

✓ Parâmetros que não apresentaram normalidade (teste de Kolmogorov-Smirnov), homogeneidade (teste de Levene), homocedasticidade de variância e linearidade nos dados: Foram utilizados os testes não paramétricos de Mann-Whitney para verificar a diferença entre os sexos e o teste de Kruskall-Wallis para a diferença entre faixas etárias.

Hematologia: Leucócitos totais, hemácias totais e basófilos.

Bioquímica: Ácido úrico, uréia, lipídeos totais, proteínas totais, albumina, globulina, ferro e magnésio.

✓ Comparação entre filhotes amamentados com leite materno e filhotes amamentados com fórmula láctea artificial e entre fêmeas lactantes e fêmeas não lactantes: Foi utilizado o teste não paramétrico de Mann-Whitney.

Para todos os testes estatísticos empregados adotou-se o nível de significância de 95% ($p < 0,05$) (Zar, 1999).

3. Referências Bibliográficas

- Arraut, E.M.; Rudorff, C.M.; Barbosa, C.C.; Mantovani, J.E.; Novo, E.M.L.M. & Marmontel, M. 2005. Modelagem da distribuição do peixe-boi amazônico, *Trichechus inunguis*. In: II Seminário Anual de Pesquisas do Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá, Tefé, AM. Resumos do II SAP.
- Best, R.C. 1981. Foods and feeding habits of captive and wild Sirenia. *Mammal*, 11(3): 3-29.
- Best, R.C. 1982. Seasonal breeding in the Amazonian manatees, *Trichechus inunguis* (Mammalia: Sirenia). *Biotropica*, 14(1): 76-78.
- Best, R.C. 1983. Apparent dry-season fasting in Amazonian manatees (Mammalia: Sirenia). *Biotropica*, 15(1): 61-64.
- Best, R.C. 1984a. *Trichechus inunguis*, vulgo Peixe-boi. *Ciência Hoje*, 2 (10): 66-73.
- Best, R.C. 1984b. The aquatic mammals and reptiles of the Amazon. In: Sioli, H. (Ed). *The Amazon. Limnology and landscape ecology of a mighty tropical river and its basin*. Dr. W. Junk Publishers: 371-412.
- Best, R.C.; Ribeiro, G.A.; Yamakoshi, M. & da Silva, V.M.F. 1982. Artificial feeding for unweaned Amazonian manatees (*Trichechus inunguis*). *International Zoo Yearbook*, London, 22: 263-267.
- Carter, A.M.; Enders, A.C.; Kunzle, H.; Oduor-Okelo, D. & Vogel, P. 2004. Placentation in species of phylogenetic importance: The Afrotheria. *Animal Reproduction Science*, 82-83: 35-48.
- Carter, A.M.; Miglino, M.A.; Ambrosio, C.E.; Santos, T.C.; Rosas, F.C.W.; Neto, J.A.; Lazzarini, S.M.; Carvalho, A.F. & da Silva, V.M.F. 2008. Placentation in the Amazonian manatee (*Trichechus inunguis*). *Reproduction, Fertility and Development*, 20: 537-545.
- Dacie, J.V.; Lewis, S.M. 1970. *Hematología Práctica*. Editora Toray, Barcelona, Espanha. 536pp.
- da Silva, V.M.F.; Cantanhede, A.M. & Rosas, F.C.W. 2008. Peixe-boi da Amazônia, *Trichechus inunguis* (Natterer, 1883). In: Machado, A.B.; Drummond, G.; Paglia, A. (Org.). *Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção*. Fundação Biodiversitas, Belo Horizonte, Minas Gerais: 816-818.
- de Jong, W.W. & Goodman, M. 1982. Mammalian phylogeny studied by sequence analysis of the eye lens protein α -crystallin. *Zeitschr. Säugetierk*, 47: 257-276.

- de Jong, W.W.; Zweers, A. & Goodman, M. 1981. Relationship of armadillo to elephants, hyraxes and sea cows from alpha-crystallin sequences. *Nature*, 292: 538-540.
- Domning, D.P. 1981. Distribution and status of manatees *Trichechus* spp. near the mouth of the Amazon River, Brazil. *Biological Conservation*, 19: 85-97.
- Domning, D.P. 1982. Commercial exploitation of manatees *Trichechus* in Brasil. C. 1785-1973. *Biological Conservation*, 22: 101-126.
- Gallivan, G.J. & Best, R.C. 1980. Metabolism and respiration of the Amazonian manatee (*Trichechus inunguis*). *Physiological Zoology*, 53: 245-253.
- Gallivan, G.J.; Best, R.C. & Kanwisher, J.W. 1983. Temperature regulation in the Amazonian Manatee, *Trichechus inunguis*. *Physiological Zoology*, 56(2): 255-262.
- Gallivan, G.J.; Kanwisher, J.W. & Best, R.C. 1986. Heart rates and gas exchange in the Amazonian Manatee (*Trichechus inunguis*) in relation to diving. *Journal of Comparative Physiology B*, 156(3): 415-423.
- Junk, W.J. 1970. Investigations on the ecology and production biology of the 'floating-meadows' (*Paspalo Echinochloetum*) on the middle Amazon. The floating vegetation and its ecology. *Amazoniana*, 4(1): 449-495.
- Kleinschmidt, T.; Czelusniak, J.; Goodman, M. & Braunitzer, G. 1986. Paenungulata: A Comparison of the Hemoglobin Sequences from Elephant, Hyrax and Manatee. *Molecular Biology Evolution*, 3 (5): 427-435.
- Montgomery, G.G.; Best, R.C. & Yamakoshi, M. 1981. A radio-tracking study of the Amazonian manatee (*Trichechus inunguis*) (Mammalia:Sirenia). *Biotropica*, 13(2):81-85.
- Marmontel, M. 2008. *Trichechus inunguis*. In: International Union for Conservation of Nature (IUCN), 2009. Red List of Threatened Species. Disponível em: <<http://www.iucnredlist.org>>. Acesso em: 23 de setembro de 2009.
- Nunes-Pereira, M. 1944. O peixe-boi da Amazônia (*Trichechus inunguis*). *Boletim do Ministério da Agricultura, Rio de Janeiro*, 33(5): 21-95.
- Rodriguez-Chacón, Z.M. 2001. Características alimentares e nutricionais do peixe-boi da Amazônia, *Trichechus inunguis* (Mammalia, Sirenia), em condições de cativeiro. Tese de doutorado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazonia/Fundação Universidade do Amazonas, Manaus, Amazonas. 170 pp.
- Rodriguez-Chacon, Z. M.; da Silva, V. M.F. & d’Affonseca Neto, J. A. 1999. Fórmulas lácteas para alimentação de filhotes órfãos de peixe-boi da Amazônia. In:

Nutrição e alimentação do peixe-boi. Conservação e manejo do peixe-boi da Amazônia (*Trichechus inunguis*) em cativeiro. In: Programa piloto para a proteção das florestas tropicais do Brasil. Subprograma de Ciência e Tecnologia. PPG-7 - C&T. Manaus/AM. Secretaria Técnica - Ministério de Ciência e Tecnologia (Brasília/DF), p. 214-217.

- Rosas, F.C.W. 1991. Peixe-boi da Amazônia, *Trichechus inunguis* (Natterer, 1883) In: Cappozzo, H.L. & Junin, M. (Eds). Estado de Conservación de los mamíferos marinos del Atlántico Sudoccidental. Informes y Estudios del Programa de Mares Regionales del PNUMA. 1 ed. Nairobi, Vol. 1: Centro de Actividad del Programa para los Oceanos y las Zonas Costeras del PNUMA, p. 178-181.
- Rosas, F.C.W.; Colares, E.P.; Colares, I.G. & da Silva, V.M.F. 1991. Mamíferos aquáticos da Amazônia brasileira. In: Val, A.L.; Figliuolo, R.; Feldsberg, E. (Eds). Bases científicas para o estabelecimento de estratégias de preservação e desenvolvimento da Amazônia: fatos e perspectivas. Vol.1. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazonas. p. 405-411.
- Rosas, F.C.W. 1994. Biology, Conservation and Status of the Amazonian Manatee (*Trichechus inunguis*). *Mammal Review*, 24 (2): 49-59.
- 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*. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da Unipar, Umuarama*, 2(1): 37-42.
- Rosas, F.C.W. & Pimentel, T.L. 2001. Order Sirenia (Manatees, dugongs, sea cows). In: Fowler, M.E. & Cubas, Z.S. (Eds.). *Biology, Medicine, and Surgery of South American Wild Animals*. Iowa State University Press. Ames, Iowa, USA. p. 352-362.
- Schalm, O.W.; Jain, N.C. & Carroll, E.J. 1975. *Veterinary Hematology*. Editora: University of California, Berkeley, CA, USA. 807pp.
- Zar, J.H. 1999. *Biostatistical analysis*. 4th ed. Upper Saddle River: Prentice Hall, New Jersey, USA. 663pp.

Capítulo I

Parâmetros Hematológicos do Peixe-Boi da Amazônia (*Trichechus inunguis*)

Resumo

Os parâmetros hematológicos são característicos de cada espécie e nos fornecem informações essenciais sobre o estado de saúde dos indivíduos. Esses parâmetros são influenciados pelas condições fisiológicas e variações ambientais à que o animal é submetido. O volume corpuscular médio das hemácias e a concentração da hemoglobina, por exemplo, variam de acordo com a necessidade de oxigênio exigida por cada animal. Este estudo objetivou determinar os valores normais do hemograma do peixe-boi da Amazônia (*Trichechus inunguis*) em cativeiro e caracterizar eventuais diferenças nestes parâmetros hematológicos de acordo com a faixa etária, o sexo, a ocorrência ou não de lactação em fêmeas adultas e a dieta láctea no caso de filhotes lactentes. Foram realizadas análises hematológicas de 84 indivíduos de *T. inunguis*, sendo 43 fêmeas (16 filhotes, 18 juvenis e 9 adultos) e 41 machos (13 filhotes, 15 juvenis e 13 adultos), entre os anos de 1993 e 2008. Foram encontradas variações entre as classes etárias para o total de hemácias, concentração de hemoglobina, hematócrito, total de leucócitos, heterófilos, eosinófilos, monócitos, volume corpuscular médio e hemoglobina corpuscular média. Entre os sexos, foram observadas diferenças na concentração de hemoglobina, concentração de hemoglobina corpuscular média, número total de eosinófilos de machos juvenis e no total de hemácias. As variações observadas entre as classes etárias são provavelmente resultantes das modificações que os animais sofrem durante o seu processo de crescimento e desenvolvimento, como a formação dos ossos e do sistema imunológico. As variações relacionadas ao sexo foram observadas em animais jovens provavelmente decorrentes da produção de hormônios sexuais durante o desenvolvimento reprodutivo. Este fato levou a uma diminuição no total de hemácias e, conseqüentemente, nos níveis de hemoglobina e concentração de hemoglobina corpuscular média, como observado nas fêmeas. As diferentes dietas lácteas oferecidas aos filhotes também afetaram o volume corpuscular médio, a concentração de hemoglobina corpuscular média e as plaquetas. Estes parâmetros provavelmente variaram em função da diminuição no tamanho das hemácias devido a uma carência de ferro em algumas fórmulas lácteas.

Abstract

The hematological parameters are typical of each species and furnish essential information about the health status of individual. These parameters are influenced by physiological and environmental variations that the animal is submitted to. The mean corpuscular volume of erythrocytes and the concentration of hemoglobin, for example, vary according to the need of oxygen required for every animal. This study objectified to determine the normal values of blood count of the Amazonian Manatee (*Trichechus inunguis*) in captivity and characterize eventual differences in hematological blood parameters according to age, sex, adult females in lactation and milk diet for calves. Hematological analysis were performed for 84 individuals of *T. inunguis*, 43 females (16 calves, 18 juveniles and 9 adults) and 41 males (13 calves, 15 juveniles and 13 adults) between 1993 and 2008. Variations were found among age groups for red blood cells, hemoglobin concentration, hematocrit, white blood cells, neutrophils, eosinophils, monocytes, mean corpuscular volume and mean corpuscular hemoglobin. Between sexes, differences were observed in hemoglobin concentration, mean corpuscular hemoglobin concentration, total eosinophils of juveniles male and red blood cells. The variations observed between age groups are probably due to changes that the organism of the animals undergo during the process of growth and development, such as the formation of bones and the immune system. The variations between sexes observed in young animals were due to the production of sex hormones during reproductive development. This fact caused a decrease in red blood cells and consequently in the levels of hemoglobin and mean corpuscular hemoglobin concentration, as observed in females. The type of nourishment also affects the concentration of mean corpuscular volume, mean corpuscular hemoglobin and platelets. These parameters are probably affected by the reduction in size of red blood cells due to the lack of iron in the diet.

1. Introdução

A análise dos parâmetros hematológicos fornece informações importantes sobre o estado de saúde dos animais. O conjunto desses parâmetros sanguíneos constitui o hemograma, cujos valores seguem um padrão comum para os indivíduos de uma mesma espécie, quando consideradas as mesmas condições fisiológicas e ambientais (Bossart & Dierauf, 2001). Koopman *et al.* (1999) mencionam que os parâmetros hematológicos de mamíferos marinhos são altamente espécie-específicos. Quando o hemograma de um indivíduo difere do padrão apresentado por sua espécie, provavelmente, este animal possui alguma patologia ou outra anormalidade. No entanto, os valores desses parâmetros sofrem diversas influências, devendo ser consideradas as condições fisiológicas em que o animal se encontra, sendo também necessário o conhecimento da dieta a que os animais estão submetidos. As variações decorrentes do estresse causado pelo manejo e variação ambiental, também devem ser considerados.

O sangue é um tecido composto de um meio intercelular, denominado plasma, e por um meio celular. Faz parte deste último, os glóbulos vermelhos, também chamados hemácias ou eritrócitos, os glóbulos brancos ou leucócitos, e as plaquetas, que são fragmentos citoplasmáticos de células. O plasma é composto por 92% de água, 7% de sólidos orgânicos dissolvidos (proteínas como albumina, globulinas, fibrinogênio e os demais fatores de coagulação e, uma pequena quantidade de substâncias nitrogenadas, gorduras neutras, colesterol, fosfolípidos, glicose, enzimas e hormônios) e 1% de sólidos inorgânicos (Na^+ , Ca^{++} , K^+ , Mg^{++} , P , Cu^{++} , e HCO_3^-) (Garcia-Navarro & Pachaly, 1994). As células sanguíneas dos vertebrados são produzidas na medula óssea, que se encontra no interior dos ossos (Keer, 2003). Todavia, os ossos dos peixes-bois são densos e a maioria não possui medula óssea. Esses ossos excessivamente compactos são denominados paquiostóticos e possuem importante função na estabilidade do corpo para compensar a flutuabilidade positiva devido à grande extensão dos pulmões, aos gases intestinais gerados por microorganismos no processo de digestão da celulose das plantas ingeridas (Reynold & Odell, 1991) e à espessa camada de gordura que podem acumular no período de alimentação farta.

Apenas os ossos vertebrais e o esterno do peixe-boi possuem medula óssea em seu interior, e são os responsáveis pela produção da maior parte da produção de células sanguíneas (Bazzini, *et al.*, 1986; Fawcett, 1942). O fígado, o baço e os nódulos linfáticos também são locais de hematopoiese durante o desenvolvimento fetal, mas, a partir do sétimo mês de vida intra-uterina, a medula óssea se torna o local principal de hematopoiese e permanece durante a vida adulta (Kierszenbaum, 2004).

As hemácias são as células sanguíneas mais numerosas no sangue dos mamíferos, possuindo vida média de sessenta a cento e vinte dias. Sua função consiste no transporte do oxigênio dos pulmões para os tecidos e de parte do gás carbônico no sentido inverso. Este processo é desempenhado pela molécula de hemoglobina, contida nas hemácias (Farmer *et al.*, 1979; Keer, 2003).

Em condições normais o hematócrito, que consiste na porcentagem total de eritrócitos do sangue, apresenta um valor constante para a maioria das espécies, sendo este de aproximadamente 40% de todo volume sanguíneo (Bossart & Dierauf, 2001). Contudo, para mamíferos aquáticos, o valor do hematócrito é mais elevado (Reidarson *et al.*, 2000). Isso ocorre porque os eritrócitos desses animais são maiores e menos numerosos do que os dos mamíferos terrestres. Desta forma, são úteis no aumento da capacidade de armazenamento de oxigênio em uma menor área de superfície para difusão, tornando sua liberação mais lenta (Bossart & Dierauf, *op. cit.*). Os valores do volume corpuscular médio das hemácias e da concentração da hemoglobina no sangue também são maiores. Estas características são explicadas pela necessidade de uma maior taxa de oxigênio pelos mamíferos aquáticos devido ao seu metabolismo alto e elevado gasto de energia, principalmente durante o mergulho (Bossart & Dierauf, *op. cit.*). Entretanto, diferente dos demais mamíferos aquáticos, os peixes-bois apresentam um valor de hematócrito semelhante ao dos mamíferos terrestres, uma baixa capacidade de ligação de O₂ e menor necessidade do mesmo (Farmer *et al.*, *op. cit.*). Estes fatores estão presumivelmente relacionados ao seu metabolismo baixo (Gallivan & Best, 1980; Gallivan *et al.*, 1986; Irvine, 1983).

Além das hemácias, o animal também possui células responsáveis por sua defesa, os leucócitos, que se dividem em dois grupos: os granulócitos e os agranulócitos (Keer, *op. cit.*). Os granulócitos são divididos em heterófilos, eosinófilos e

basófilos, e desempenham atividades importantes nos processos inflamatórios, infecciosos, imunológicos e de desintoxicação. Os agranulócitos consistem nos monócitos e nos linfócitos. Os linfócitos são produzidos nos linfonodos, baço e tecidos linfóides, e são os principais responsáveis pela imunidade celular e resposta humoral dos animais (Garcia-Navarro & Pachaly, 1994). Os monócitos participam dos processos inflamatórios crônicos, realizando fagocitose (Keer, 2003). Os leucócitos atuam identificando e neutralizando agentes estranhos (antígenos) ao organismo e nos processos inflamatórios, sendo sua produção e entrada na circulação sanguínea reguladas pelas necessidades do organismo (Garcia-Navarro & Pachaly, *op. cit.*).

Cada tipo de leucócito possui uma função específica, sendo que o número total de leucócitos e a porcentagem de cada um dos seus tipos variam de espécie para espécie (Garcia-Navarro & Pachaly, *op. cit.*). Assim, a contagem diferencial dos leucócitos permite determinar o estado de saúde do animal. Por exemplo, o aumento do número de heterófilos (neutrofilia) é observado no sangue de indivíduos que apresentam processo inflamatório. Por outro lado, a diminuição do número de heterófilos (neutropenia) pode indicar infecção bacteriana ou viral em estado agudo. O aumento do número de monócitos geralmente está associado a doenças inflamatórias crônicas e o aumento do número de eosinófilos (eosinofilia) indica resposta do organismo a processos alérgicos, ocorrência de parasitismo ou presença de lesões teciduais (Keer, *op. cit.*). Os sirenios, no entanto, apresentam uma porcentagem alta de linfócitos e uma porcentagem baixa de heterófilos quando comparado a outros mamíferos (Converse *et al.*, 1994; Irvine *et al.*, 1980, Medway *et al.*, 1982; White *et al.*, 1976). Neste caso, pode estar ocorrendo a presença de agentes patogênicos sem indicar necessariamente alguma patologia.

Além da determinação da contagem das células sanguíneas, o hemograma também permite a quantificação das plaquetas. Estas são fragmentos do citoplasma de células chamadas megacariócitos e que medem de 2 a 4 μm de diâmetro, provenientes da medula óssea e importantes no processo de coagulação sanguínea (Johnson, 1991). O número de plaquetas no sangue circulante também varia entre as espécies de mamíferos.

Nos mamíferos aquáticos, assim como na maioria dos mamíferos terrestres, os parâmetros hematológicos sofrem influência de fatores endógenos (sexo, idade, maturação gonadal, massa corpórea), e exógenos (medo, agitação, estresse, alimentação, temperatura, oxigênio, e etc.). St. Aubin *et al.* (2001) encontraram maior número de leucócitos em indivíduos jovens de baleias belugas (*Delphinapterus leucas*) quando comparado com indivíduos sexualmente maduros. Diferenças hematológicas, principalmente no número de eritrócitos, foram observadas em golfinhos-nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*). Esses animais habitavam áreas profundas e distantes da costa, indicando que essas diferenças foram atribuídas a fatores ambientais e genéticos, relacionada à demanda de oxigênio e à habilidade de mergulho da espécie (Duffield *et al.*, 1983). Koopman *et al.* (1999) observaram diferenças significativas no número de eritrócitos, hematócrito, volume corpuscular médio, hemoglobina corpuscular média e no número de monócitos entre as classes reprodutivas de golfinhos do porto (*Phocoena phocoena*).

Os percentuais das principais células de defesa geralmente diferem entre animais selvagens e cativos, como foi observado para o golfinho do porto, *Phocoena phocoena* (Koopman *et al.*, *op. cit.*). Os indivíduos selvagens apresentaram menor número de leucócitos totais, baixa porcentagem de heterófilos e linfócitos e alta porcentagem de monócitos e eosinófilos quando comparado com animais cativos. De acordo com Asper *et al.* (1990) estas diferenças podem ser causadas pelo fato de que mamíferos aquáticos selvagens são mais susceptíveis a infecções parasitárias. Estas infecções contribuem para o aumento do estímulo antigênico, o que não é observado em animais cativos, cujos valores hematológicos são inferiores.

1.1 Hematologia em *Trichechus inunguis*

Estudos foram realizados com o sangue do peixe-boi da Amazônia proporcionando o conhecimento de algumas características dos parâmetros hematológicos da espécie. No entanto, estes estudos necessitam ser complementados com uma análise mais robusta e detalhada destes parâmetros.

Farmer *et al.* (1979) analisaram duas fêmeas de *T. inunguis* e encontraram um nível de hematócrito (40%) e de capacidade de ligação de O₂ pela hemoglobina (18,8 ml O₂/100 ml) semelhantes ao encontrado em mamíferos terrestres. Porém, o valor destes parâmetros foi inferior ao encontrado em outros mamíferos aquáticos, provavelmente devido ao metabolismo mais acelerado destes últimos. A hemoglobina de *T. inunguis* apresentou uma sensibilidade reduzida quanto à temperatura, sendo um fator importante para a homeostase do animal que vive em um meio aquático e possui sangue quente.

Rosas *et al.* (1999) analisaram o hematócrito de um grupo de nove peixes-bois cativos e outro grupo de cinco peixes-bois selvagens. Os animais cativos apresentaram um hematócrito menor provavelmente porque possuíam uma vida mais sedentária do que os animais da natureza. Contudo, conforme observado pelos autores, os animais do cativeiro na ocasião do estudo estavam submetidos à monotonia alimentar e os parâmetros sanguíneos encontrados para àqueles indivíduos não podem ser considerados normais para a espécie. Neste trabalho também foi verificado se existe influência do sexo no hematócrito e na concentração de hemoglobina destes animais e nenhuma diferença foi detectada.

Além do hemograma, a análise dos constituintes do plasma sanguíneo também nos oferece importantes informações sobre o estado de saúde dos animais, deficiências nutricionais e a regulação das funções fisiológicas (Colares *et al.*, 1992; Koopman *et al.*, 1995). Este estudo teve como objetivo caracterizar os parâmetros hematológicos do peixe-boi da Amazônia (*Trichechus inunguis*) em cativeiro com o intuito de estabelecer valores-referência para a espécie. Os objetivos específicos foram: verificar a ocorrência de variações significativas no hemograma entre os sexos e as diferentes classes etárias (filhotes, juvenis e adultos); comparar os parâmetros sanguíneos entre filhotes machos amamentados com leite materno e filhotes machos amamentados com fórmula láctea artificial; comparar os parâmetros sanguíneos entre fêmeas lactantes e fêmeas não-lactantes e fornecer subsídios para diagnosticar eventuais patologias ou carências nutricionais nesta espécie.

2. Material e Métodos

As análises sanguíneas foram realizadas de forma automatizada na Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Estado do Amazonas (HEMOAM) com o aparelho Pentra 120[®] patentado pelo laboratório ABX Diagnostics - France. As análises seguiram o protocolo oferecido pelo laboratório, somente a contagem diferencial de leucócitos foi feita manualmente. Foram realizadas análises hematológicas de 84 indivíduos de *T. inunguis*, sendo 43 fêmeas (16 filhotes, 18 juvenis e 9 adultos) e 41 machos (13 filhotes, 15 juvenis e 13 adultos), entre os anos de 1993 e 2008.

2.1 Hemácias

- **Contagem de Hemácias ou “Red blood cells” (RBC)**

A contagem das hemácias foi feita utilizando 0,5 µL de sangue para 5 ml do diluente ABX Diluent[®]. O diluente é uma solução tampão isotônica com propriedade eletrolítica composta por cloreto de sódio (< 1%), natriumazídeo (< 1%) e surfactante (< 1%). As hemácias foram contadas na câmara de contagem do Pentra120[®] pelo método de impedância ou resistência elétrica. Este método mede a variação da impedância gerada pela passagem de células através de uma micro-abertura calibrada em 50 µm, que é proporcional ao tamanho da célula. Foi determinado o número de hemácias por microlitro de sangue.

- **Hematócrito (Ht)**

A determinação do hematócrito foi feita utilizando-se o sangue diluído para a contagem de hemácias. Foi calculada a porcentagem de células vermelhas em relação ao total do sangue amostrado.

- **Concentração de Hemoglobina (Hb)**

A concentração de hemoglobina circulante foi determinada utilizando-se o método da cianometemoglobina (Collier, 1944). Foi diluído 10,7 µL de sangue para 2 ml do diluente ABX Diluent[®] e 0,5 ml do diluente ABX Alphalyse[®] (Cianeto de potássio,

0,03% e sal de amônio quaternário, < 3%). A hemoglobina é liberada pela lise das células da série vermelha, realizada pelo diluente Alphalyse e combina-se com o cianeto de potássio para formar o composto de cianometemoglobina. O sangue com diluente foi contado na câmara de contagem do Pentra120[®] pelo método de Fotometria, sendo que a absorbância (ABS) da amostra foi determinada utilizando-se comprimento de onda de 540 nm.

Determinou-se a densidade óptica do padrão, colocando-se 5 ml da solução padrão estoque de cianometemoglobina, equivalente a 15,06 g/dL de hemoglobina na cubeta do espectrofotômetro.

A concentração de hemoglobina foi expressa em g/dL, utilizando a fórmula abaixo:

$$[\text{Hb}] \text{ (g/dL)} = \frac{\text{ABS do sangue} \times 15,06}{\text{ABS do padrão}}$$

- **Índices Hematimétricos de Wintrobe**

Após obtenção dos resultados de RBC, Ht e Hb, para cada indivíduo, os valores do volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) foram determinados seguindo as recomendações de Wintrobe (1934), como descrito a seguir:

$$\text{VCM (fL)} = \text{Ht} \times 10 / \text{RBC}$$

$$\text{HCM (pg)} = [\text{Hb}] \text{ (g/dL)} \times 10 / \text{RBC}$$

$$\text{CHCM (g/dL)} = [\text{Hb}] \times 100 / \text{Ht}$$

* = multiplicação

2.2 Leucócitos

- **Contagem Total de Leucócitos ou “White blood cells” (WBC)**

A contagem total de leucócitos foi feita utilizando-se 10,7 µL de sangue para 2 ml do mesmo diluente eletrolítico utilizado para a contagem de hemácias e 0,5 ml do diluente ABX Alphalyse[®]. O sangue com diluente foi contado na câmara de contagem

do Pentra120[®], da mesma forma que a contagem da Hb, pelo método de impedância ou resistência elétrica (variação da impedância gerada pela passagem de células através de uma micro-abertura calibrada em 100 μm), que é proporcional ao tamanho da célula. O número de leucócitos foi expresso para cada microlitro de sangue.

- **Contagem Diferencial dos Leucócitos**

Para realizar a contagem diferencial de leucócitos foram confeccionadas extensões sanguíneas, ou esfregaços, que consistem na extensão de uma pequena gota de sangue total em uma lâmina. O sangue forma uma fina película que é corada, pancromicamente, com o corante de May-Grunwald e o corante de Giemsa (Fig. 1). A lâmina foi examinada ao microscópio óptico com uma objetiva (100x) utilizando óleo de imersão. A coloração da extensão sanguínea foi feita cobrindo-se a lâmina com o corante de May-Grunwald durante 1 minuto. Em seguida, a lâmina foi lavada e coberta com água destilada por 3 minutos, e na sequência, foi coberta por uma solução do corante de Giemsa diluído (2 gotas do corante para cada ml de água destilada) por 15 minutos. Foram contadas 100 células para se estabelecer a fórmula leucocitária, anotando o tipo de cada célula (Delaney & Garratty, 1969). O resultado foi expresso em μL .

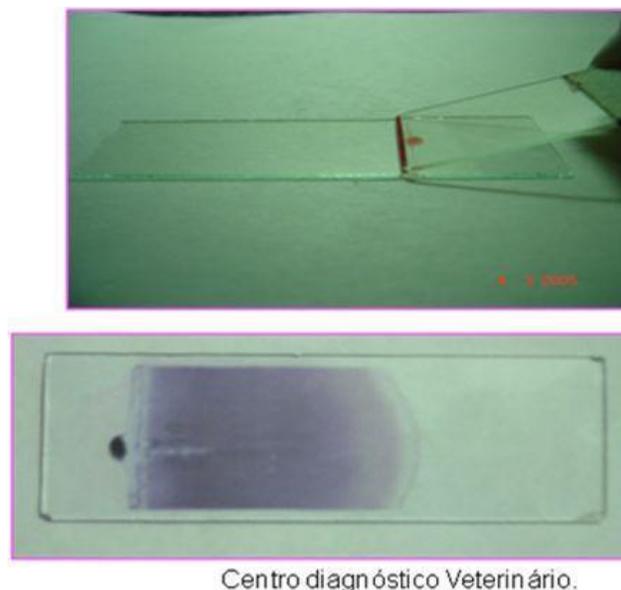


Figura 1. Preparação de extensão sanguínea e lâmina corada.

2.3 Plaquetas

- **Contagem de Plaquetas (Plt)**

Foi feita utilizando-se 0,5 μL de sangue para 5 ml do diluente utilizado para contagem de hemácias. As plaquetas foram contadas utilizando o mesmo método da contagem de hemácias. O número de plaquetas foi expresso por μL .

Também foi calculado o volume médio de plaquetas (VPM), utilizando-se a curva de distribuição de plaquetas gerada pelo aparelho Pentra 120[®] (Fig.2).

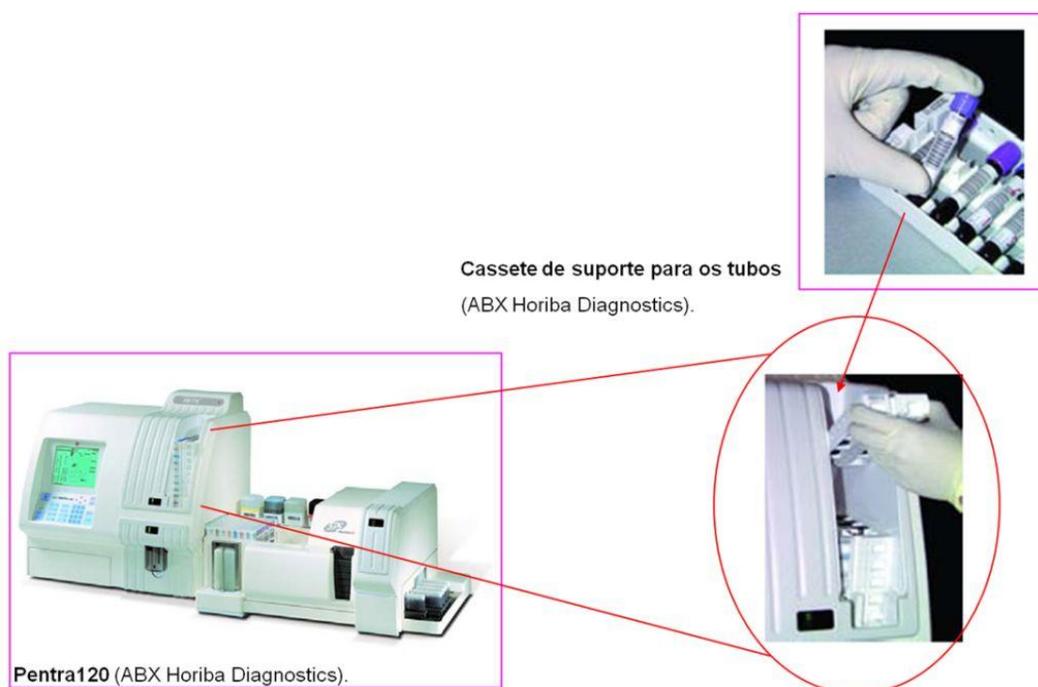


Figura 2. Leitura de amostras hematológicas no aparelho Pentra 120[®]

3. Resultados

3.1 Classe etária em machos

Machos adultos apresentaram valores inferiores ($7,2 \pm 0,9$; $p < 0,05$) de WBC quando comparados com filhotes ($10,1 \pm 3,1$; $p < 0,05$) e juvenis ($10,4 \pm 1,8$; $p < 0,05$) do mesmo sexo. O número total de linfócitos circulantes também foi menor em machos adultos ($2,5 \pm 0,7$; $p < 0,05$) do que em machos juvenis ($5,3 \pm 1,1$; $p < 0,05$) (Tabela 1, Fig. 4).

O valor total de heterófilos ($4,8 \pm 1,3$; $p < 0,05$), eosinófilos ($0,9 \pm 0,3$; $p < 0,05$) e monócitos ($0,7 \pm 0,2$; $p < 0,05$) foram mais elevados em machos juvenis do que o valor total de heterófilos ($3,9 \pm 0,5$; $p < 0,05$), eosinófilos ($0,5 \pm 0,2$; $p < 0,05$) e monócitos ($0,4 \pm 0,1$; $p < 0,05$) em machos adultos (Tabela 1, Fig. 4).

3.2 Classe etária em fêmeas

Em fêmeas, observaram-se valores significativamente maiores na contagem de RBC ($2,7 \pm 0,3$; $p < 0,05$) e Hb ($11,0 \pm 1,1$; $p < 0,05$) do sangue de filhotes quando comparado com fêmeas juvenis (RBC= $2,3 \pm 0,2$; $p < 0,05$ / HB= $9,8 \pm 0,8$; $p < 0,05$) e adultas (RBC= $2,2 \pm 0,1$; $p < 0,05$ / HB= $9,9 \pm 0,5$; $p < 0,05$) da espécie. Os filhotes deste sexo também apresentaram valores de hematócrito ($34,5 \pm 4,1$; $p < 0,05$) mais altos do que os juvenis ($30,5 \pm 2,8$; $p < 0,05$), total de linfócitos ($3,8 \pm 2,5$; $p < 0,05$) e plaquetas ($362,0 \pm 119,5$; $p < 0,05$) superior ao de adultos (LI= $4,0 \pm 1,5$; $p < 0,05$ / Plt= $194,2 \pm 34,4$; $p < 0,05$) (Tabela 2, Figs. 3 e 4).

Os valores de VCM ($129,8 \pm 8,3$; $p < 0,05$) e HCM ($40,8 \pm 3,3$; $p < 0,05$) foram menores em filhotes do que em fêmeas adultas (VCM= $141,2 \pm 2,5$; $p < 0,05$ / HCM= $45,6 \pm 1,5$; $p < 0,05$). Por outro lado, as fêmeas adultas apresentaram menor número de leucócitos totais ($7,4 \pm 2,4$; $p < 0,05$) no sangue ($p < 0,05$) do que em filhotes ($9,9 \pm 2,5$; $p < 0,05$) e juvenis ($9,9 \pm 2,5$; $p < 0,05$) e menores quantidades de heterófilos ($3,2 \pm 1,0$; $p < 0,05$) e monócitos ($0,3 \pm 0,2$; $p < 0,05$) que juvenis (NE= $4,2 \pm 1,4$; $p < 0,05$ / MO= $0,6 \pm 0,3$; $p < 0,05$) (Tabela 2, Figs. 3 e 4).

Tabela 1. Valores hematológicos normais de machos de *T. inunguis* em cativeiro

Parâmetros	Classe Etária					
	Filhote		Juvenil		Adulto	
	Média \pm DP (mín-máx)	n	Média \pm DP (mín-máx)	n	Média \pm DP (mín-máx)	n
RBC (10 ⁶ / μ L)	2,7 \pm 0,4 (2,2-3,7)	15	2,4 \pm 0,2 (1,9-2,8)	16	2,4 \pm 0,1 (2,1-2,5)	12
Hb (g/dL)	11,8 \pm 2,3 (9,5-18,0)	14	10,7 \pm 0,7 (9,4-12,0)	16	10,6 \pm 0,2 (10,2-11,1)	12
Ht (%)	35,6 \pm 4,9 (29,0-45,3)	14	32,3 \pm 2,5 (28,8-38,0)	17	32,6 \pm 1,1 (30,7-34,4)	13
VCM (fL)	133,0 \pm 5,3 (121,0-142,0)	14	137,0 \pm 6,3 (125,0-151,0)	17	138,6 \pm 5,6 (130,0-146,0)	13
HCM (pg)	44,0 \pm 3,0 (40,6-52,1)	14	45,4 \pm 2,7 (42,2-51,6)	16	45,0 \pm 2,6 (42,5-51,5)	12
CHCM (g/dL)	33,1 \pm 2,0 (30,7-39,6)	14	33,3 \pm 1,1 (32,0-36,2)	16	32,7 \pm 1,0 (31,2-35,0)	12
Plt (10 ³ / μ L)	321,0 \pm 106,0 (189,0-580,0)	14	284,6 \pm 112,0 (137,0-497,0)	16	232,4 \pm 53,0 (128,0-287,0)	12
VPM (fL)	5,8 \pm 0,4 (5,2-6,6)	14	5,9 \pm 0,5 (5,1-6,7)	16	6,0 \pm 0,3 (5,4-6,5)	12
WBC (10 ³ / μ L)	10,1 \pm 3,1 (5,7-18,5) ^I	14	10,4 \pm 1,8 (7,0-13,5) ^I	16	7,2 \pm 0,9 (5,9-9,0) ^{II}	12
NE (10 ³ / μ L)	4,1 \pm 0,8 (3,2-5,2)	9	4,8 \pm 1,3 (3,4-6,9) ^I	9	3,9 \pm 0,5 (3,0-4,8) ^{II}	9
LI (10 ³ / μ L)	3,9 \pm 3,1 (2,1-12,6) ^I	9	5,3 \pm 1,1 (2,4-6,1)	9	2,5 \pm 0,7 (1,6-3,5) ^{II}	9
EO (10 ³ / μ L)	0,7 \pm 0,2 (0,4-1,1)	9	0,9 \pm 0,3 (0,6-1,7) ^I	9	0,5 \pm 0,2 (0,4-1,0) ^{II}	9
MO (10 ³ / μ L)	0,7 \pm 0,4 (0,4-1,5)	9	0,7 \pm 0,2 (0,3-1,2) ^I	9	0,4 \pm 0,1 (0,3-0,6) ^{II}	9
BA (10 ³ / μ L)	0,0 \pm 0,0 (0,0-0,0)	9	0,03 \pm 0,1 (0,0-0,1)	9	0,03 \pm 0,1 (0,0-0,1)	9

Hemácias totais: Red blood cells (RBC), hemoglobina (Hb), hematócrito (Ht), volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), plaquetas (Plt), volume de plaquetas médio (VPM), leucócitos totais: White blood cells (WBC), heterófilos (NE), linfócitos (LI), eosinófilos (EO), monócitos (MO) e basófilos (BA). n= n^o de animais analisados; DP= desvio-padrão da média; mín-máx= valor mínimo e valor máximo. I; II = Números romanos diferentes indicam valores estatisticamente diferentes (p < 0,05).

Tabela 2. Valores hematológicos normais de fêmeas de *T. inunguis* em cativeiro.

Parâmetros	Classe Etária					
	Filhote		Juvenil		Adulto	
	Média ± DP (mín-máx)	n	Média ± DP (mín-máx)	n	Média ± DP (mín-máx)	n
RBC (10 ⁶ /μL)	2,7 ± 0,3 (2,0–3,2) ^I	17	2,3 ± 0,2 (2,0–2,6) ^{II}	18	2,2 ± 0,1 (1,9–2,3) ^{II}	10
Hb (g/dL)	11,0 ± 1,1 (9,2–13,3) ^I	17	9,8 ± 0,8 (8,6–11,8) ^{II}	18	9,9 ± 0,5 (9,2–10,6) ^{II}	10
Ht (%)	34,5 ± 4,1 (28,2–42,4) ^I	17	30,5 ± 2,8 (26,5–37,0) ^{II}	18	30,7 ± 1,6 (27,7–33,1)	10
VCM (fL)	129,8 ± 8,3 (118,0–144,0) ^I	17	136,0 ± 6,2 (123,0–146,0)	18	141,2 ± 2,5 (138,6–145,0) ^{II}	10
HCM (pg)	40,8 ± 3,3 (35,2–46,2) ^I	17	43,6 ± 2,2 (36,8–46,4)	18	45,6 ± 1,5 (43,8–48,3) ^{II}	10
CHCM (g/dL)	32,0 ± 1,2 (30,2–35,2)	17	32,3 ± 1,1 (30,0–34,0)	18	32,2 ± 0,6 (31,2–33,4)	10
Plt (10 ³ /μL)	362,0 ± 119,5 (182,0–548,0) ^I	17	260,0 ± 96,5 (116,0–451,0)	18	194,2 ± 34,4 (117,0–249,0) ^{II}	10
VPM (fL)	6,5 ± 1,2 (5,2–9,3)	17	6,3 ± 1,4 (5,1–9,7)	18	6,5 ± 1,2 (5,2–9,1)	10
WBC (10 ³ /μL)	9,9 ± 2,5 (6,2–15,4) ^I	17	9,9 ± 2,5 (4,8–13,4) ^I	18	7,4 ± 2,4 (5,1–13,3) ^{II}	10
NE (10 ³ /μL)	3,5 ± 0,7 (2,9–4,5)	7	4,2 ± 1,4 (2,3–7,6) ^I	15	3,2 ± 1,0 (2,3–5,5) ^{II}	10
LI (10 ³ /μL)	3,8 ± 2,5 (2,5–9,7) ^I	7	5,0 ± 1,6 (1,4–6,7)	15	4,0 ± 1,5 (1,1–6,0) ^{II}	10
EO (10 ³ /μL)	0,6 ± 0,2 (0,4–0,8)	7	0,6 ± 0,2 (0,3–1,1)	15	0,5 ± 0,3 (0,2–1,2)	10
MO (10 ³ /μL)	0,5 ± 0,2 (0,3–0,8)	7	0,6 ± 0,3 (0,2–1,2) ^I	15	0,3 ± 0,2 (0,2–0,7) ^{II}	10
BA (10 ³ /μL)	0,0 ± 0,0 (0,0–0,0)	7	0,02 ± 0,0 (0,0–0,1)	15	0,1 ± 0,0 (0,0–0,1)	10

Hemácias totais: Red blood cells (RBC), hemoglobina (Hb), hematócrito (Ht), volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), plaquetas (Plt), volume de plaquetas médio (VPM), leucócitos totais: White blood cells (WBC), heterófilos (NE), linfócitos (LI), eosinófilos (EO), monócitos (MO) e basófilos (BA). n= n° de animais analisados; DP= desvio-padrão da média; mín-máx= valor mínimo e valor máximo.

I; II = Números romanos diferentes indicam valores estatisticamente diferentes ($p < 0,05$).

3.3 Machos x Fêmeas

Os valores de CHCM foram mais elevados em filhotes ($33,1 \pm 2,0$; $p < 0,05$) e juvenis ($33,3 \pm 1,1$; $p < 0,05$) machos quando comparados com filhotes ($32,0 \pm 1,2$; $p < 0,05$) e juvenis ($32,3 \pm 1,1$; $p < 0,05$) fêmeas. De maneira análoga, machos juvenis também apresentaram maiores concentrações de hemoglobina ($10,7 \pm 0,7$; $p < 0,05$) e eosinófilos ($0,9 \pm 0,3$; $p < 0,05$) do que as concentrações de hemoglobina ($9,8 \pm 0,8$; $p < 0,05$) e eosinófilos ($0,6 \pm 0,2$; $p < 0,05$) em fêmeas da mesma classe etária (Figs. 3 e 4).

Os demais parâmetros não citados não apresentaram diferença significativa entre as classes etárias e os sexos.

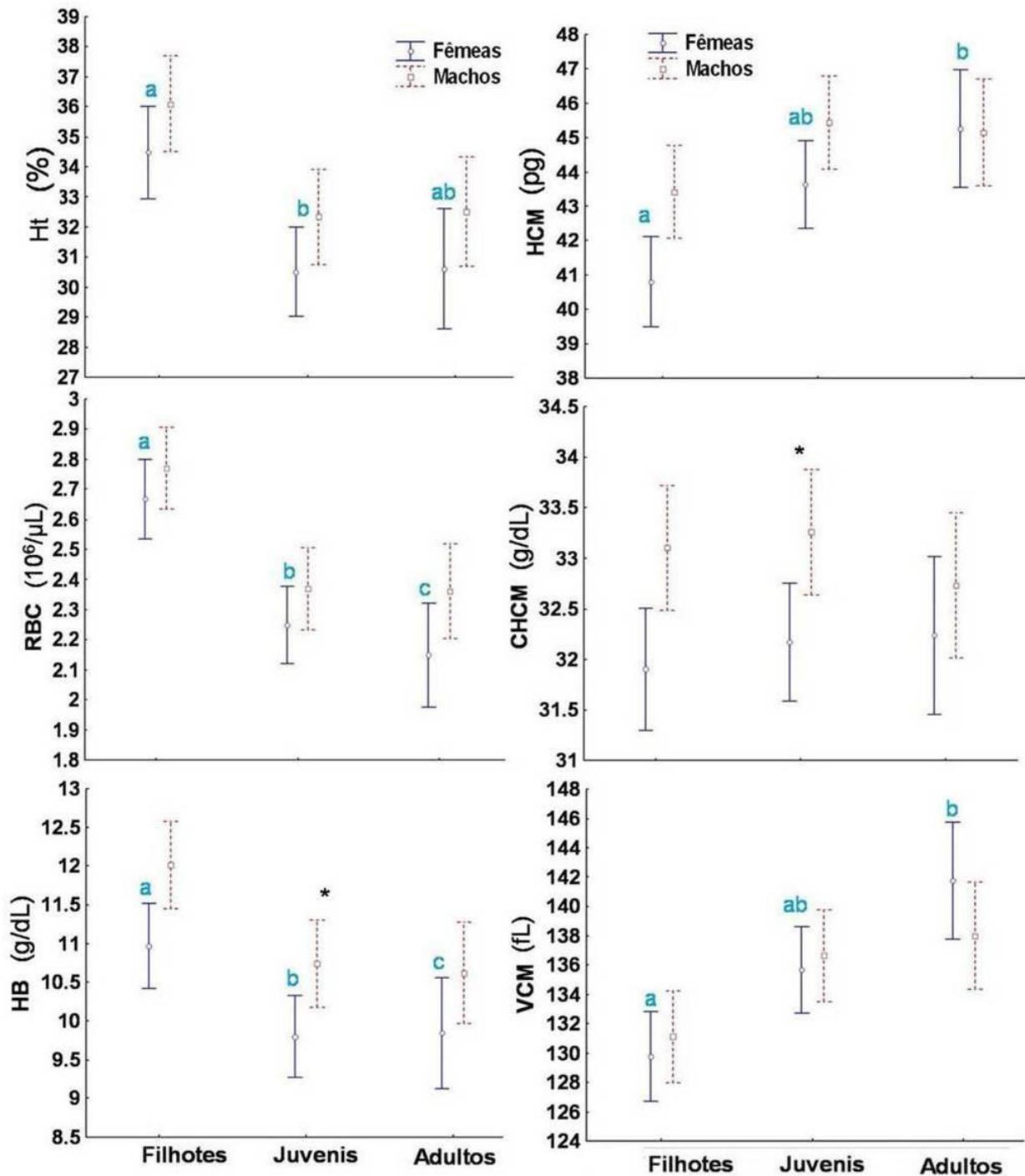


Figura 3. Hematócrito (Ht), hemácias totais (RBC), concentração de hemoglobina (HB), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e volume corpuscular médio (VCM) no sangue de *T. inunguis* por sexo nas diferentes classes etárias. Os valores plotados representam a média ± o desvio-padrão. A, b, c (cor azul): letras diferentes estão indicando diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as classes etárias considerando apenas fêmeas. Ab: classe etária que não se diferiu estatisticamente ($p < 0,05$) das demais. *: Parâmetros que apresentaram diferenças estatísticas entre os sexos ($p < 0,05$).

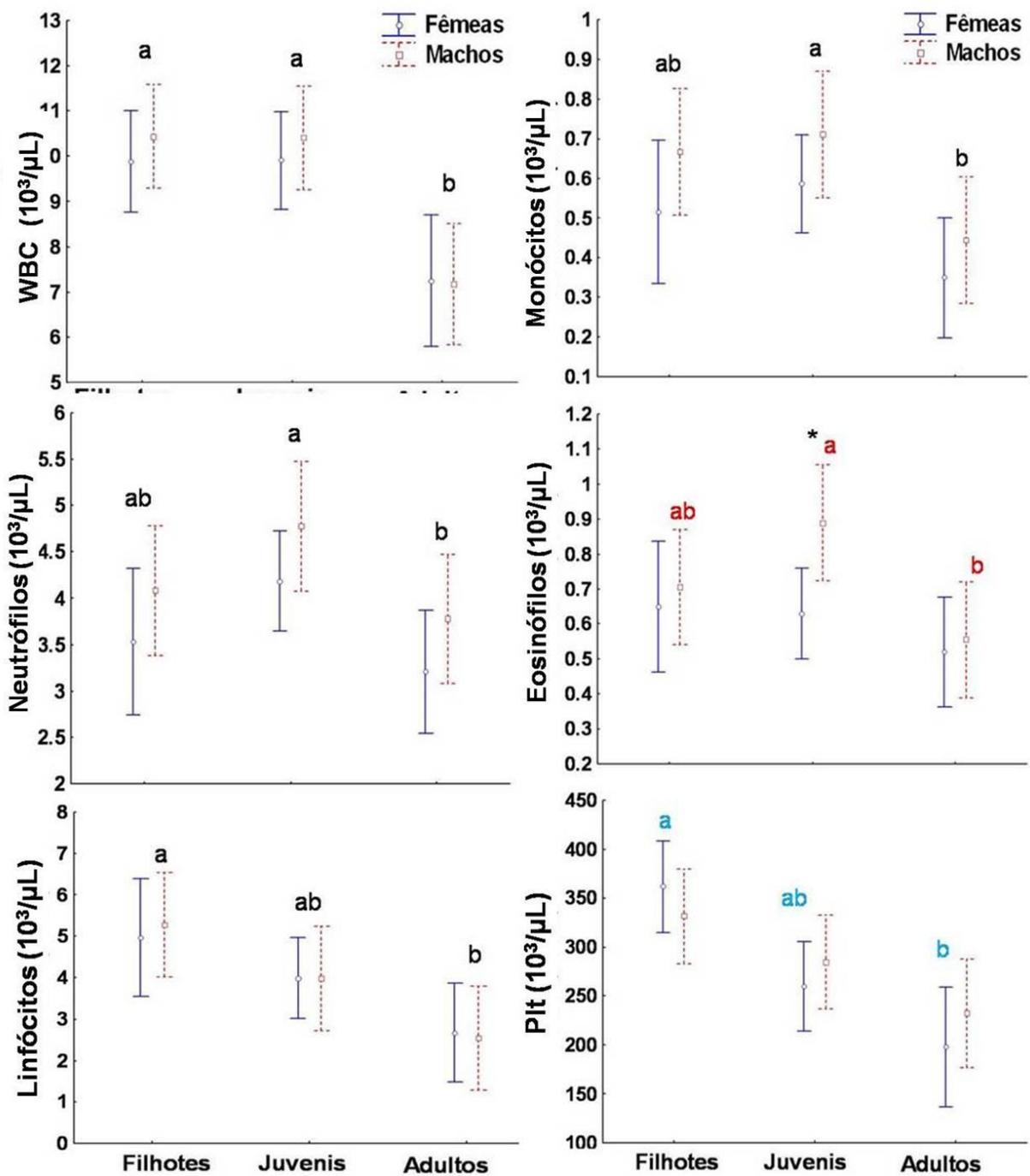


Figura 4. Leucócitos totais (WBC), heterófilos, linfócitos, monócitos, eosinófilos e plaquetas (Plt) no sangue de *T. inunguis* por sexo nas diferentes classes etárias. Os valores plotados representam a média \pm o desvio-padrão. A, b, c: letras diferentes estão indicando diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as classes etárias apenas em fêmeas (cor azul), apenas em machos (cor vermelha) ou em machos e em fêmeas (cor cinza). Ab: classe etária que não se diferiu estatisticamente ($p < 0,05$) das demais. *: Parâmetros que apresentaram diferenças estatísticas entre os sexos ($p < 0,05$).

3.4 Filhotes machos amamentados com leite materno e fórmula láctea artificial

Filhotes amamentados com fórmula láctea artificial apresentaram níveis mais elevados de VCM ($132,9 \pm 5,4$; $p < 0,05$) e HCM ($44,0 \pm 3,0$; $p < 0,05$) e menor número de plaquetas ($320,6 \pm 106,5$; $p < 0,05$) do que filhotes amamentados com leite materno (VCM= $123,0 \pm 2,4$; $p < 0,05$ / HCM= $40,8 \pm 0,0$; $p < 0,05$ / Plt= $424,2 \pm 35,0$; $p < 0,05$) (Tabela 3, Fig. 5).

Tabela 3. Hematologia de machos lactentes de *T. inunguis* alimentados com leite materno e com fórmula láctea artificial

Parâmetros	Tipo de Leite Consumido	
	Leite Materno (n=3)	Fórmula Láctea Artificial (n=14)
	Média \pm DP (mín-máx)	Média \pm DP (mín-máx)
RBC ($10^6/\mu\text{L}$)	$3,0 \pm 0,2$ (2,8–3,1)	$2,7 \pm 0,4$ (2,2–3,7)
Hb (g/dL)	$12,3 \pm 0,6$ (11,6–12,8)	$11,8 \pm 2,3$ (9,5–18,0)
Ht (%)	$37,0 \pm 1,7$ (35,6–38,9)	$35,6 \pm 4,9$ (29,0–45,3)
VCM (fL)*	$123,0 \pm 2,4$ (120,0–125,0)	$132,9 \pm 5,4$ (121,0–142,0)
HCM (pg)*	$40,8 \pm 0,0$ (40,8–40,9)	$44,0 \pm 3,0$ (40,6–52,0)
CHCM (g/dL)	$33,2 \pm 0,6$ (32,7–33,9)	$33,1 \pm 2,0$ (30,7–39,6)
Plt ($10^3/\mu\text{L}$)*	$424,2 \pm 35,0$ (396,0–463,5)	$320,6 \pm 106,5$ (189,0–580,0)
VPM (fL)	$6,4 \pm 0,4$ (5,9–6,7)	$5,8 \pm 0,4$ (5,2–6,6)
WBC ($10^3/\mu\text{L}$)	$10,9 \pm 1,5$ (9,1–11,9)	$10,1 \pm 3,1$ (5,7–18,5)

Hemácias totais: Red blood cells (RBC), hemoglobina (Hb), hematócrito (Ht), volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), plaquetas (Plt), volume de plaquetas médio (VPM) e leucócitos totais: White blood cells (WBC). n= n° de animais analisados; DP= desvio-padrão da média; mín-máx= valor mínimo e valor máximo. *= Parâmetros que variaram estatisticamente ($p < 0,05$).

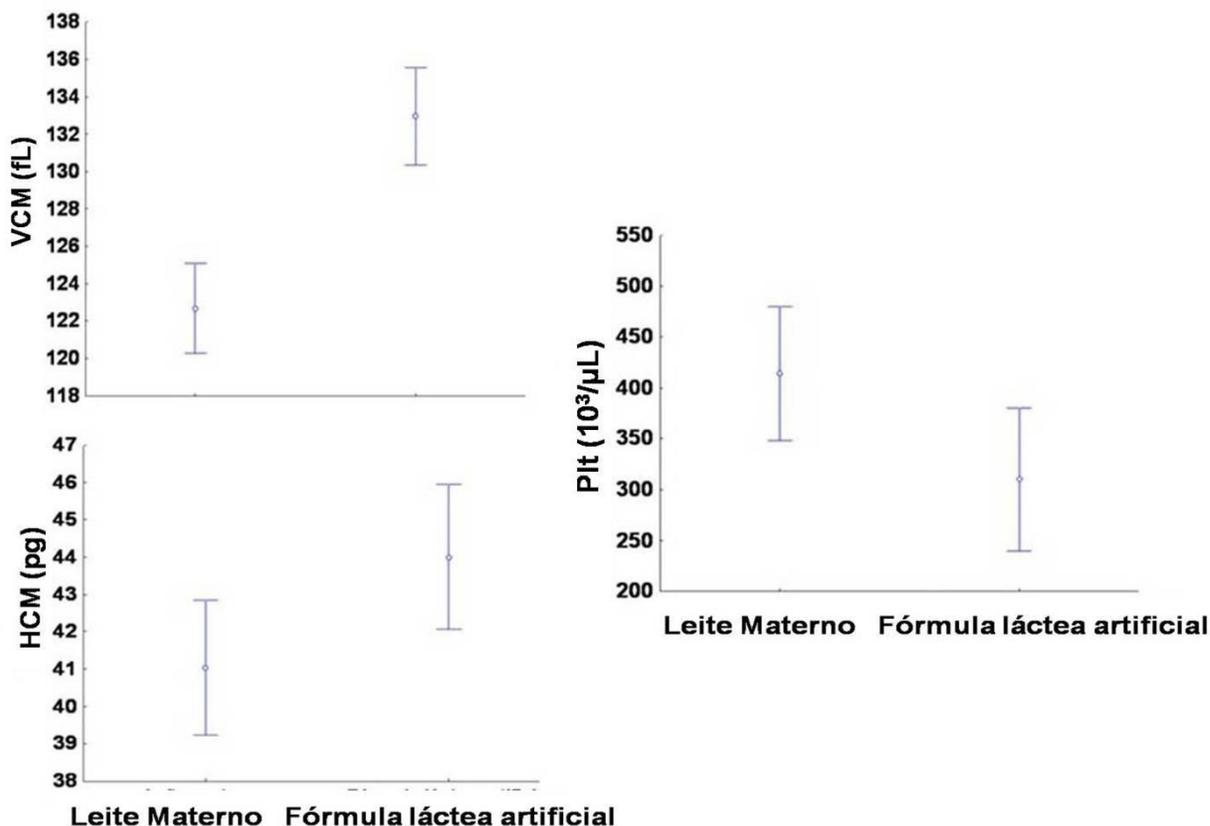


Figura 5. Volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e plaquetas (Plt) no sangue de filhotes amamentados com leite materno e com fórmula láctea artificial. Os valores plotados representam a média \pm o desvio-padrão.

3.5 Influência da lactação em fêmeas adultas

Quando comparados os valores hematológicos de fêmeas adultas lactantes e não-lactantes, observou-se que as fêmeas em fase de lactação apresentaram um número maior de plaquetas ($267,0 \pm 61,0$; $p < 0,05$) (Tabela 4, Fig. 6).

Tabela 4. Valores hematológicos de fêmeas adultas lactantes e não-lactantes em cativeiro.

Parâmetros	Estado Fisiológico	
	Lactantes (n =3)	Não-Lactantes (n = 10)
	Média ± DP (mín-máx)	Média ± DP (mín-máx)
RBC (10 ⁶ /μL)	2,2 ± 0,3 (1,9-2,5)	2,2 ± 0,1 (1,9-2,3)
Hb (g/dL)	9,8 ± 1,0 (8,7-10,7)	9,9 ± 0,5 (9,2-10,6)
Ht (%)	30,2 ± 3,4 (26,3-32,7)	30,7 ± 1,6 (27,7-33,1)
VCM (fL)	137,8 ± 4,4 (133,0-141,5)	142,0 ± 2,5 (138,6-145,0)
HCM (pg)	31,0 ± 1,2 (43,5-45,9)	45,6 ± 1,5 (43,8-48,3)
CHCM (g/dL)	32,6 ± 0,5 (32,0-33,0)	32,2 ± 0,6 (31,2-33,4)
Plt (10 ³ /μL)*	267,0 ± 61,0 (231,0-337,0)	194,2 ± 34,4 (117,0-249,0)
VPM (fL)	6,3 ± 0,6 (5,7-6,9)	6,5 ± 1,2 (5,2-9,1)
WBC (10 ³ /μL)	5,9 ± 0,8 (5,2-6,7)	7,4 ± 2,4 (5,1-13,3)

Hemácias totais: Red blood cells (RBC), hemoglobina (Hb), hematócrito (Ht), volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), plaquetas (Plt), volume de plaquetas médio (VPM) e leucócitos totais: White blood cells (WBC). n= n^o de animais analisados; DP= desvio-padrão da média; mín-máx= valor mínimo e valor máximo. * = Parâmetros que variaram estatisticamente (p < 0,05).

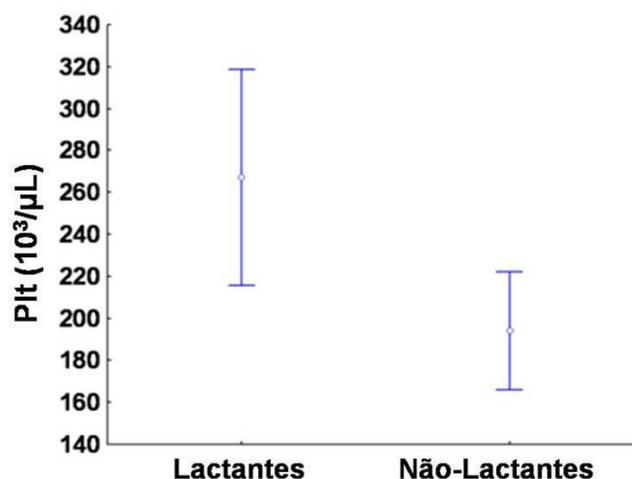


Figura 6. Plaquetas (Plt) no sangue de fêmeas adultas lactantes e não-lactantes de *T. inunguis*. Os valores plotados representam a média ± o desvio-padrão.

4. Discussão

4.1 Influência etária nos parâmetros hematológicos

Durante a ontogenia, ocorre um aumento da massa corpórea e consequentemente aumento da ingestão de alimentos devido à maior necessidade energética. Quando o animal nasce, o sistema imunológico ainda não está completamente formado, e com o decorrer do tempo, o ritmo de atividades do organismo como um todo vai diminuindo. A taxa metabólica diminui e as células reduzem sua atividade e qualidade. Essas mudanças serão refletidas nos parâmetros do tecido sanguíneo, que é o meio de transporte de todos os componentes necessários para o funcionamento do organismo (Schalm *et al.*, 1975).

Neste trabalho, verificou-se que filhotes e juvenis de peixes-bois da Amazônia possuem quantidades maiores de WBC no sangue quando comparados com animais adultos. Esta variação no WBC com a idade também foi verificada no peixe-boi marinho, (*Trichechus manatus*) (Converse *et al.*, 1994; Harvey *et al.*, 2009), no boto-vermelho (*Inia geoffrensis*) (Mello, 2006), na beluga (*Delphinapterus leucas*) (St. Aubin *et al.*, 2001), na foca parda (*Halichoerus grypus*) (Hall, 1998) e no hyrax (*Procavia capensis*) (Aroch *et al.*, 2007), sendo este último um parente evolutivo próximo dos peixes-bois. Isto ocorre porque o sistema imunológico dos animais mais jovens ainda está em formação (Tizard *et al.*, 2002). Consequentemente, estes animais estão mais suscetíveis às infecções viróticas, bacterianas ou qualquer outro patógeno que aumentará o número de leucócitos circulantes no sangue.

Dentre os leucócitos, os que mais variaram com a idade no peixe-boi da Amazônia foram os heterófilos e linfócitos, semelhante ao encontrado para o peixe-boi das Antilhas (*T. manatus manatus*) (Converse *et al.*, 1994), peixe-boi da Flórida (*Trichechus manatus latirostris*) (Manire *et al.*, 2003; Harvey *et al.*, *op. cit.*; White *et al.*, 1976), beluga (St. Aubin *et al.*, *op. cit.*) e boto-vermelho (Mello, 2006). Esta variação mais acentuada nos heterófilos e linfócitos é, possivelmente, um reflexo da maior quantidade destes leucócitos no sangue dos vertebrados (Bossart & Dierauf, 2001).

Os peixes-bois deste estudo apresentaram um alto número de linfócitos circulantes, similar ao encontrado no peixe-boi da Flórida (Kiehl & Schiller, 1994, Harvey *et al.*, 2009), no elefante marinho (*Mirounga leonina*) (Lewins *et al.*, 2001; Sanvito *et al.*, 2005) e no hyrax (Aroch *et al.*, 2007). Este resultado diferiu do encontrado para outros mamíferos como o golfinho nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*) (Goldstein *et al.*, 2006), o golfinho do porto (*Phocoena phocoena*) (Koopman *et al.*, 1999; Boily *et al.*, 2006) e a lontra européia (*Lutra lutra*) (Lewis *et al.*, 1998). Bossart & Dierauf (2001) afirmam que os peixes-bois possuem um número elevado de linfócitos circulantes quando comparado com cetáceos e pinípedes, sendo esta, possivelmente uma característica da Ordem Sirenia. Uma explicação provável para isto seria o fato de que os linfócitos são os únicos leucócitos que são produzidos em outros locais além da medula óssea (Keer, 2003). Deste modo, a ausência de medula óssea nos ossos longos dos peixes-bois acarreta um menor número de heterófilos, eosinófilos, monócitos e basófilos que dependem exclusivamente da medula óssea para sua produção (Britt & Howard, 1984).

O total de eosinófilos de *T. inunguis* deste trabalho foi semelhante ao encontrado para outros mamíferos de cativeiro (Cornell *et al.*, 1983; Harvey *et al.*, *op. cit.*; Lewis *et al.*, 1998; Naves *et al.*, 2006) e menor que o encontrado em mamíferos aquáticos de vida livre (Harvey *et al.*, *op. cit.*; Mello, 2006; Williams & Pulley, 1983; Zhimei & Daoquan, 1989). Isto pode ser explicado pelo fato de que os mamíferos aquáticos possuem maior propensão a parasitas, geralmente combatidos no organismo pelos eosinófilos, do que animais cativos, que estão em um ambiente mais controlado.

Os basófilos, células responsáveis pelo início dos processos inflamatórios, são as únicas células de defesa do organismo que não sofreram grande variação na quantidade encontrada no sangue circulante dos animais deste trabalho, sendo raro encontrar basófilos em lâminas com extensões sanguíneas de peixes-bois (Bossart & Dierauf, *op. cit.*; Converse *et al.*, 1994; Manire *et al.*, 2003; Medway *et al.*, 1982). A baixa quantidade de basófilos no sangue circulante é uma característica natural encontrada nos vertebrados em geral (Koopman *et al.*, 1999, Manire *et al.*, *op. cit.*; Naves *et al.*, *op. cit.*).

O alto número de plaquetas observado nos peixes-bois mais jovens deste estudo também foi relatado para outras espécies como no golfinho-nariz-de-garrafa (Hall *et al.*, 2007) e no hyrax (Aroch *et al.*, 2007). Kierszenbaum (2004) relata que a redução plaquetária com a idade possivelmente ocorre devido ao acúmulo de gordura na medula óssea, diminuindo, com isso, o local de hematopoiese.

Os valores mais elevados de hemácias e hemoglobina, também observados em indivíduos mais jovens neste estudo, corroboraram os resultados observados em outros mamíferos aquáticos (Converse *et al.*, 1994; Lewis & Campagna, 2001; Harvey *et al.*, 2009; St. Aubin *et al.*, 2001). Estes resultados provavelmente se devem ao fato de que durante o crescimento o organismo necessita de uma maior taxa de oxigênio. Este fato é decorrente do alto consumo energético resultante da formação de novas células e desenvolvimento dos órgãos e tecidos (Schalm *et al.*, 1975). Essas novas hemácias formadas apresentam um tamanho menor e isso explicaria os menores valores de VCM e HCM encontrados em indivíduos jovens neste trabalho. Este mesmo resultado foi também observado para lobos-marinhos jovens (*Arctocephalus philippii*) (Sepúlveda, 1999) e para jovens de peixe-boi da Flórida (Harvey *et al.*, *op. cit.*). Entretanto, devido à maior necessidade de retenção de oxigênio para o mergulho (Ridgway, 1972), os mamíferos aquáticos possuem hemácias maiores e maior concentração de hemoglobina do que mamíferos terrestres (Reidarson *et al.*, 2000).

4.2 Influência do sexo nos parâmetros hematológicos

As mudanças sofridas pelos animais durante o processo de maturação, causadas principalmente pela atuação de hormônios sexuais, são refletidas nos níveis dos constituintes sanguíneos. A maior produção de estrógenos pelas fêmeas, resultantes do seu processo de maturação sexual, geralmente acarreta variação nos níveis de hemácias e hemoglobina no sangue. Keer (2003) afirma que isto ocorre porque o hormônio que regula a taxa de eritropoese, a eritropoetina, diminui por influência de estrógenos, acarretando uma diminuição no RBC e, conseqüentemente, nos níveis de hemoglobina e CHCM. Isso foi também observado nas fêmeas juvenis deste trabalho, na lontra da Amazônia (Colares & Best, 1991), na foca do porto (*Phoca*

vitulina) (Morgan *et al.*, 1998), no elefante marinho (Lewis & Campagna, 2001), no boto-vermelho (Mello, 2006) e no hyrax (Aroch *et al.*, 2007). Similarmente, não foram observadas variações hematológicas nos níveis de hemoglobina e CHCM relacionadas ao sexo no peixe-boi da Flórida (Harvey *et al.*, 2009) e na orca (*Orcinus orca*) (Cornell, 1983). No entanto, o grupo de machos e fêmeas analisados para estas espécies englobava todas as classes etárias e, em filhotes não há variação entre os sexos. Diferindo dos resultados deste trabalho, Rosas *et al.* (1999), não encontraram diferenças entre os sexos para os parâmetros hematológicos entre *T. inunguis* selvagens e de vida livre. No entanto, o número de indivíduos analisados era pequeno e não permitiu inferir conclusões a este respeito.

Não foi verificado nenhum trabalho apresentando alto valor de eosinófilos em machos juvenis como o encontrado neste estudo. Além disso, não há evidências na influência dos hormônios sexuais no aumento de eosinófilos.

4.3 Fêmeas lactantes e variações hematológicas

Segundo Schalm *et al.* (1975), os estrógenos influenciam na produção de plaquetas causando sua diminuição. Portanto, a hipoestrogenia irá levar a um aumento do número de plaquetas no sangue, como provavelmente ocorreu em fêmeas lactantes neste trabalho. Souza *et al.* (2002) afirmam que no período de lactação o organismo da fêmea está voltando a estabelecer seu padrão hematológico normal. Isto possivelmente explica a ausência de variação significativa na maioria dos parâmetros hematológicos de fêmeas de *T. inunguis*.

4.4 Dieta láctea e parâmetros hematológicos

Os valores de VCM e HCM mais elevados observados nos animais submetidos à dieta láctea artificial sugerem que estes podem apresentar carência de ferro. Com a existência de uma menor concentração de ferro, as hemácias apresentam um tamanho maior e os níveis de HCM mais baixos, ocasionando o aumento do VCM (hemácias maiores) (Keer, 2003).

Rodriguez-Chacón (2001) testando uma fórmula láctea composta por leite, ovo cozido, manteiga sem sal, melão e complexo vitamínico Poliplex[®], a qual foi também administrada em parte dos animais deste estudo, comparou a digestibilidade desta fórmula com leites de outras espécies de mamíferos e fórmulas lácteas diferentes. Foi observada uma alta digestibilidade dos carboidratos e uma baixa digestibilidade de proteínas da fórmula láctea oferecida aos filhotes de *T. inunguis* quando comparada ao leite de *T. manatus manatus*. A menor absorção de proteínas poderia ocasionar uma menor assimilação de aminoácidos formadores da proteína trombopoietina, que faz parte da constituição das plaquetas. Este fato pode ser uma provável explicação para o baixo número de plaquetas encontrado no sangue dos filhotes alimentados com fórmula láctea artificial deste estudo.

Silva *et al.* (2007) forneceram fórmulas lácteas com diferentes tipos de leite de soja para filhotes de *T. manatus manatus*. Foram comparados os parâmetros hematológicos destes animais com o de outros filhotes que se alimentaram de leite natural da espécie. Não foi observada nenhuma variação hematológica, todavia, foi utilizado somente um indivíduo alimentado com leite natural. Dessa forma, torna-se necessário mais estudos sanguíneos que comparem o efeito do leite natural em relação à dieta artificial.

Considerando o número de peixes-bois analisados neste estudo ao longo de um período de 16 anos, e o acompanhamento da análise hematológica temporal de grande parte destes animais, acredita-se que os valores hematológicos aqui apresentados refletem os valores sanguíneos normais do peixe-boi da Amazônia. Estes valores poderão servir de base para diagnósticos de eventuais patologias e para o monitoramento da saúde de indivíduos desta espécie. Deve ser considerado que alguns parâmetros diferem quanto ao sexo, classe etária ou estado fisiológico.

5. Referências Bibliográficas

- Aroch, I.; King, R. & Baneth, G. 2007. Hematology and serum biochemistry values of trapped, healthy, free-ranging rock hyraxes (*Procavia capensis*) and their association with age, sex, and gestational status. *Veterinary Clinical Pathology*, 36(1):40-48.
- 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 Bottlenose Dolphins. In: Leatherwood, S.; Reeves, R.R. (Eds). *The bottlenose dolphin*. Vol.1. Academic Press, San Diego, CA. p. 479-485.
- Bazzini, M.D.; Reynolds III, J.E. & Essman, R.A. 1986. Erythropoiesis and granulopoiesis in the West Indian manatee, *Trichechus manatus* (Mammalia: Sirenia). *Acta Anatomica (Baseline)*, 126(3): 150-152.
- Boily, F.; Beaudoin, S. & Measures, L.N. 2006. Hematology and serum chemistry of harp (*Phoca groenlandica*) and hooded seals (*Cystophora cristata*) during the breeding season, in the gulf of st. Lawrence, Canada. *Journal of Wildlife Diseases*, 42(1): 115-132.
- Bossart, G.D. & Dierauf, L.A. 2001. Clinical pathology. In: Dierauf, L.A. (Ed). *Handbook of Marine Mammal Medicine*. CRC Press, Boca Raton, Flórida, EUA. p. 383-436.
- Britt Jr., J.O. & Howard, E.B., 1984. The Hematopoietic System. In: Howard, E.B. (Ed). *Pathobiology of Marine Mammal Diseases*. Boca Raton, Filadélfia, EUA. p. 65-78.
- Colares, E.P.; Gonçalves-Colares, I. & Amaral, A.D. 1992. Parameters of the amazonian manatee (*Trichechus inunguis*), Dietary variation. *Comparative Biochemistry Physiology A*, 103(2): 413-415.
- Colares, E.P. & Best, R.C. 1991. Blood Parameters of Amazon Otters (*Lutra Longicaudis*, *Pteronura Brasiliensis*) (Carnivora, Mustelidae). *Comparative Biochemistry Physiology A*, 99(4): 513-515.
- Collier, H.B. 1944. The standardization of blood haemoglobin determinations. *Canadian Medical Association Journal*, Vancouver, 50: 550-552.
- Converse, L.J.; Peter, B.S.J. & Fernands, B.S. 1994. Hematology, serum chemistry, and morphometric reference values for Antillean manatees (*Trichechus manatus manatus*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 25(3): 423-431.
- Cornell, L.H., 1983. Hematology and clinical chemistry values in the Killer whale, *Orcinus orca*. *Journal of Wildlife Diseases*, 19(3): 259-264.

- Delaney, J.W. & Garratty, G. 1969. Handbook of haematological and blood transfusion techniques. Whitefriars Press, London and Tonbridge, Great Britain. 422pp.
- Duffield, D.A.; Ridgway, S.H. & Cornell, L.H. 1983. Hematology distinguishes coastal and offshore forms of dolphins (*Tursiops*). Canadian Journal of Zoology, 61: 930-933.
- Farmer, M.; Weber, R.E.; Bonaventura, J.; Best, R.C. & Domning, D. 1979. Functional Properties of Hemoglobin and whole blood in an aquatic mammal, the amazonian manatee (*Trichechus inunguis*). Comparative Biochemistry Physiology A, 62(4): 231-238.
- Fawcett, D.W. 1942. The amedullary bone of the Florida manatee (*Trichechus latirostris*). The American Journal of Anatomy, 71: 271-309.
- Gallivan, G.J. & Best, R.C. 1980. Metabolism and respiration of the Amazonian manatee (*Trichechus inunguis*). Physiology Zoology, 53(3): 245-253.
- Gallivan, G.J.; Kanwisher, J.W. & Best, R.C. 1986. Heart rates and gas exchange in the Amazonian Manatee (*Trichechus inunguis*) in relation to diving. Journal of Comparative Physiology B, 156(6): 415-423.
- Garcia-Navarro, C.E.K. & Pachaly, J.R. 1994. Manual de hematologia veterinária. Livraria Varela, São Paulo, SP. 169 pp.
- Goldstein, J.D.; Eric, R.; Reif, J.S.; Varela, R.A.; McCulloch, S.D.; Defran, R.H.; Patricia, A.F. & Bossart, G.D. 2006. Hematologic, Biochemical, and Cytologic Findings from Apparently Healthy Atlantic Bottlenose Dolphins (*Tursiops truncatus*) Inhabiting the Indian River Lagoon, Florida, USA. Journal of Wildlife Diseases, 42(2): 447-454.
- Hall, A.J. 1998. Blood chemistry and hematology of Gray Seal (*Halichoerus grypus*). Journal of Zoo and Wildlife Medicine, 29(4): 401-407.
- Hall, A.J.; Wells, R.S.; Sweeney, J.C.; Townsend, F.I.; Balmer, B.C.; Hohn, A.A. & Rhinehart, H.L. 2007. Annual, seasonal and individual variation in hematology and clinical blood chemistry profiles in bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) from Sarasota Bay, Florida Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology, 148(2): 266-277.
- Harvey, J.W.; Harr, K.E.; Murphy, D.; Walsh, M.T.; Nolan, E.C.; Bonde, R.K.; Pate, M.G.; Deutsch, C.J.; Edwards, H.H. & Clapp, W.L. 2009. Hematology of healthy Florida manatees (*Trichechus manatus*). Veterinary Clinical Pathology, 75(2): 63-82.

- Irvine, A.B. 1983. Manatee metabolism and its influence on Distribution in Florida. *Biological Conservation*, 25(4): 315-334.
- Irvine, A.B.; Neal, F.C.; Jenkins, R.L. & Popp, J.A. 1980. Clinical Observations on captive and free-ranging west Indian manatees, *Trichechus manatus* in Florida. *Aquatic Mammals*, 8(1): 2-9.
- Johnson, K.E. 1991. Histology and cell biology. The National Medical Series for Independent Study, USA. 409 pp.
- Keer, M.G., 2003. Exames Laboratoriais em Medicina Veterinária. Bioquímica Clínica e Hematologia. Editora Roca, São Paulo, SP. 436 pp.
- Kiehl, A.R. & Schiller, C.A. 1994. A study of manatee leukocytes using peroxidase stain. *Veterinary Clinical Pathology*, 23(2): 50-53.
- Kierszenbaum, A.L. 2004. Histologia e Biologia Celular: uma introdução à patologia. Editora Elsevier, Rio de Janeiro, RJ. 654 pp.
- Koopman, H.N.; Westgate, A.J.; Read, A.J. & Gaskin, D.E. 1995. Blood chemistry of wild harbor porpoise, *Phocoena phocoena*. *Marine Mammal Science*, 11(2): 123-135.
- Koopman, H.N.; Westgate, A.J. & Read, A.J. 1999. Hematology values of wild harbor porpoises (*Phocoena phocoena*) from the bay of Fundy. *Marine Mammal Science*, 15(1): 52-64.
- Lewis, J.C.M.; Pagan, L.; Hart, M. & Green, R. 1998. Normal haematological and serum biochemical values of Eurasian otters (*Lutra lutra*) from a Scottish rehabilitation centre. *The Veterinary Record*, 143(25): 676-679.
- Lewis, M.; Campagna, C.; Uhart, M. & Ortiz, C.L. 2001. Ontogenetic and seasonal variation in blood parameters in southern elephant seals (*Mirounga angustirostris*). *Marine Mammal Science*, 17(4): 862-872.
- Manire, C.A.; Walsh, C.J.; Rhinehart, H.L.; Colbert, D.E.; Noyes, D.R. & Luer, C.A. 2003. Alterations in Blood and Urine Parameters in Two Florida Manatees (*Trichechus manatus latirostris*) from simulated conditions of release following rehabilitation. *Zoo Biology* 22(2): 103-120.
- Medway, M.; Rathbun, G.B. & Black, D.J. 1982. Hematology of the West Indian manatee (*Trichechus manatus*). *Veterinary Clinical Pathology*, 11(2): 11-15.
- Mello, D.M.D. 2006. Hematologia e bioquímica sanguínea do boto vermelho (*Inia geoffrensis*) (de Blainville, 1817). Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de

Pesquisas da Amazonia/Fundação Universidade do Amazonas, Manaus, Amazonas. 116 pp.

- Morgan, L.; Kumaresan, S.; Thomas, C. & MacWilliams, P. 1998. Hematology and chemistry reference values for free-ranging harbor seals (*Phoca Vitulina*) and the effects of hemolysis on chemistry values of captive harbor seals. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 29(4): 394-400.
- Naves, E.A.; Ferreira, F.A.; Mundim, A.V. & Guimarães, E.C. 2006. Valores hematológicos de macaco prego (*Cebus apella*- Linnaeus, 1758) em cativeiro. *Jornal de Biosciência*, 22(2): 125-131.
- Reidarson, T.H.; Duffield, D. & McBain, J. 2000. Normal Hematology of Marine Mammals. In: Feldman, B.F.; Zinkl, J.G.; Jain, N.C; Schalm, O.W.(Eds). *Veterinary Hematology*. 5thed., Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, USA. p. 1164-1173.
- Reynold, J.E. & Odell, D.K., 1991. Manatees and Dugongs. Facts on File, Inc., New York, USA. 192pp.
- Ridgway, S.H. 1972. Homeostasis in the aquatic environment. In: Ridgway, H. (Ed) *Mammals of the Sea: Biology and Medicine*. Charles C Thomas Publishers, Springfield, Illinois, USA. p.590-747.
- Rodriguez-Chacón, Z.M. 2001. Características alimentares e nutricionais do peixe-boi da Amazônia, *Trichechus inunguis* (Mammalia, Sirenia), em condições de cativeiro. Tese de doutorado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazonia/Fundação Universidade do Amazonas, Manaus, Amazonas. 170 pp.
- 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*. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da Unipar, Umuarama*, 2 (1): 37-42.
- Sanvito, S.; Galimberti, F.; Sanvito, R. & Braschi, C., 2005. The “seal prick”: a low invasive method for blood sampling in male elephant seals. *Marine Mammal Science*, 21(3): 574-581.
- Schalm, O.W.; Jain, N.C. & Carroll, E.J. 1975. *Veterinary Hematology*. Editora: University of California, Berkeley, CA, USA. 807pp.
- Sepúlveda, M.S.; Ochoa-Acuña, H. & Homer, B.L. 1999. Age-related changes in hematocrit, hemoglobin and plasma protein in Juan Fernandez fur seals (*Arctocephalus philippii*). *Marine Mammal Science*, 15(2): 575-581.
- Silva, F.M.O.; Vergara-Parente, J.E.; Gomes, J.K.N.; Teixeira, M.N. & Lima, R.P. 2007. A Contribution for the definition of serum chemistry values in captive adults

- Antillean manatees (*Trichechus manatus manatus* Linnaeus, 1758). *Journal of Veterinary Medicine A*, 54(3): 119-122.
- Souza, A.I.; Filho, M.B. & Ferreira, L.O.C. 2002. Alterações hematológicas na gravidez. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, 24: 29-36.
- St. Aubin, D.J.; Deguise, S.; Richard, P.R.; Smith, T.G. & Gerai, J.R. 2001. Hematology and plasma chemistry as indicators of health and ecological status in beluga whales, *Delphinapterus leucas*. *Arctic*, 54(3): 317-331.
- Tizard, I.R. 2002. *Imunologia veterinária: uma introdução*. Editora ROCA, São Paulo, SP, Brazil. 532pp.
- White, J.R.; Harkness, D.R.; Isaacks, R.E. & Duffield, D.A., 1976. Some studies on blood of the Florida manatee, *Trichechus manatus latirostris*. *Comparative Biochemistry and Physiology A*, 55(4): 413-417.
- Wintrobe, M.M. 1934. Variations on the size and haemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. *Folia Haematologica*, 51: 32-49.
- Williams, T.D. & Pulley, L.T. 1983. Hematology and blood chemistry in the sea otter (*Enhydra lutris*), *Journal of Wildlife Diseases*, 19(4): 44-47.
- Zhimei, G. & Daoquan, C. 1989. Hematology of the Baiji, *Lipotes vexillifer*. In: Perrin, W.F.; Brownell, R.L.; Kaiya, R. & Jingkang, L. (Eds.). *Biology and Conservation of the River Dolphins*. Institute of Hydrobiology, Academia Sinica, Wuhan, People`s Republic of China. Occasional Paper of the IUCN Survival Commission, N° 3. p. 114-118.

Capítulo II

Bioquímica sanguínea do peixe-boi da Amazônia (*Trichechus inunguis*)

Resumo

O estudo da bioquímica sanguínea tem o intuito de analisar os níveis séricos dos constituintes do plasma sanguíneo. Esses constituintes fornecem informações sobre as condições fisiológicas do indivíduo ou de sua população, importantes para o manejo de animais em cativeiro. Assim, é imprescindível que se conheça os valores desses níveis séricos que correspondam ao estado saudável dos indivíduos da espécie estudada. Este estudo objetivou determinar os valores bioquímicos normais do sangue do peixe-boi da Amazônia (*Trichechus inunguis*) e caracterizar eventuais diferenças nestes parâmetros de acordo com a faixa etária, o sexo, a lactação em fêmeas adultas e a dieta láctea no caso de filhotes. Foram realizadas análises bioquímicas de 84 indivíduos de *T. inunguis*, sendo 43 fêmeas (16 filhotes, 18 juvenis e 9 adultos) e 41 machos (13 filhotes, 15 juvenis e 13 adultos), entre os anos de 1993 e 2008. Encontrou-se variações entre as classes etárias para os níveis séricos de fósforo, creatinina, globulina, fosfatase alcalina, lipídeos totais, colesterol e bilirrubina total. Estas variações estão indicando uma relação desses parâmetros com o crescimento e desenvolvimento do organismo. Entre os sexos, foram observadas diferenças nos níveis séricos de fosfatase alcalina, alanina aminotransferase e bilirrubina. Estas variações foram provavelmente causadas por influencia hormonal ou devido à maturação sexual. De acordo com a dieta láctea, observou-se variação nos níveis sanguíneos de uréia, gama-glutamil transferase, ferro, colesterol, triglicerídeos, lactato desidrogenase e bilirrubina. Isto é uma provável evidencia da diferença na assimilação de proteínas, minerais e compostos lipídicos das dietas oferecidas. A lactação influencia os níveis séricos de triglicerídeos e bilirrubina, que pode ter sido ocasionado devido à participação desses compostos na produção de leite pelo organismo. Neste estudo, foram utilizados apenas peixes-bois considerados saudáveis e, foram analisadas amostras de diferentes indivíduos durante um período de 16 anos. Muitos destes animais foram acompanhados em diferentes fases do seu desenvolvimento, por meio de análises hematológicas. Portanto, os dados aqui apresentados refletem os valores sanguíneos normais do peixe-boi da Amazônia. Estes dados mostram robustez e poderão ser utilizados para auxiliar na avaliação da saúde de animais mantidos em cativeiro, e no diagnóstico de patologias que porventura acometam indivíduos desta espécie.

Abstract

The study of blood biochemistry has the purpose of analyzing serum levels of blood plasma constituents. These constituents provide information about physiological conditions of the individual or its population, important to the management of captivity animals. Therefore, it's necessary to know the values of these levels that correspond to the healthy state of individuals of the specie. This study objectified to determine the normal values in the biochemistry of blood parameters of the Amazonian Manatee (*Trichechus inunguis*) and characterize eventual differences in these parameters according to age, sex, adult females in lactation and milk diet for calves. Biochemistry analysis were performed for 84 individuals of *T. inunguis*, 43 females (16 calves, 18 juveniles and 9 adults) and 41 males (13 calves, 15 juveniles and 13 adults) between 1993 and 2008. There was variation among age groups for serum phosphorus, creatinine, globulin, alkaline phosphatase, total lipids, cholesterol and total bilirubin. These variations are indicating a relationship of these parameters with the growth and development of organism. Between sexes were observed differences in serum alkaline phosphatase, alanine aminotransferase and bilirubin. These variations are probably caused by hormonal influences or due to sexual maturation. According to milk diet, variation in blood levels of urea, gamma glutamyl transpeptidase, iron, cholesterol, triglycerides, lactate dehydrogenase and bilirubin were observed. This is a probable evidence of differences in assimilation of protein, mineral and lipid contents of the diets offered. Lactation influence serum levels of triglycerides and bilirubin, possibly due to the participation of these compounds in milk production by the organism. Only manatees considered healthy were used in this study, and samples of different individuals were analysed during the long period of 16 years. Many of these animals were followed in different development phases by hematological analysis. Therefore, these data reflect the normal blood values of the Amazonian manatee. The data shows robustness and can be used to help in the health evaluation of captive animal and in the diagnosis of diseases that may affect individuals of this species.

1. Introdução

Os compostos bioquímicos do sangue são essenciais para a manutenção do arcabouço do organismo e atividade de suas células. A interpretação da variação de suas concentrações são comumente utilizadas em análises clínicas para ajudar a detectar patologias ou anormalidades em organismos (Keer, 2003).

Proteínas séricas

As proteínas são moléculas de alto peso molecular formadas pela união de aminoácidos (Conn & Stumpf, 1975). Muitas proteínas plasmáticas são transportadoras, levando nutrientes, metabólitos, hormônios, drogas e substâncias tóxicas do local de produção ou absorção até os tecidos onde são catabolizados, armazenados ou excretados (Bacila, 1980). A concentração de proteínas pode ser afetada por alterações de síntese hepática, de distribuição, degradação ou excreção protéica, desidratação ou superidratação (Hendrix, 2006).

Albumina: é a proteína mais abundante, representando de 35 a 50 % da proteína plasmática total (Hendrix, *op. cit.*). Ela possui alta densidade e grande afinidade para ânions. É ainda responsável pelo transporte de ácidos graxos, Ca^{++} , Mg^{++} , Zn^{++} , Cu^{++} , ácido úrico, hormônios sexuais e vitaminas A e C (Bacila, *op. cit.*). Além disso, ela regula a pressão osmótica do plasma e, assim, o volume plasmático e o balanço hídrico do corpo (Conn & Stumpf, *op. cit.*).

Globulinas: são responsáveis pelo transporte de ferro, lipídeos, gorduras e vitaminas lipossolúveis (Schalm *et al.*, 1975). Elas também formam os anticorpos, produzidos no baço e as células linfáticas, em resposta a agentes estranhos ao organismo (Conn & Stumpf, *op. cit.*). Sua concentração plasmática pode aumentar em fêmeas grávidas ou lactantes (Schalm *et al.*, *op. cit.*).

Minerais séricos

Ferro: encontrado na maioria dos alimentos, é importante para a síntese de

hemoglobina e faz parte das moléculas de mioglobina e enzimas hemáticas, peroxidase e catalase (Garcia-Navarro, 1994). Encontra-se no plasma ligado à proteína transferrina e sua concentração pode estar reduzida devido à ingestão, absorção inadequada ou hemorragias (Almosny & Monteiro, 2006).

Cálcio: é importante na transmissão de impulsos nervosos e contração dos músculos e é um elemento estrutural na formação dos ossos (Keer, 2003). É também responsável pela manutenção da atividade de muitas enzimas, facilitação de coagulação sanguínea e manutenção do transporte de íons inorgânicos através das membranas celulares (Hendrix, 2006).

Fósforo: é importante, na forma de fosfato, para a formação dos ossos e de compostos de alta energia (Keer, *op. cit.*).

Magnésio: é um cátion intracelular encontrado em todos os tecidos corporais, principalmente nos ossos, proximamente relacionado ao cálcio e ao fósforo. Ele ativa sistemas enzimáticos e está envolvido na produção e na decomposição de acetilcolina (Hendrix, *op. cit.*).

Substâncias Lipídicas

Colesterol: é produzido em quase todas as células do corpo, sendo especialmente abundante no fígado, local primário de produção, intestino, córtex adrenal, ovários e testículos (Hendrix, *op. cit.*). Participa intimamente da estrutura das membranas das células e suas organelas (Conn & Stumpf, 1975).

Triglicerídeos: são substâncias de reserva com alto valor calórico que podem ser rapidamente mobilizados e degradados para suprir as necessidades energéticas do organismo (Conn & Stumpf, *op. cit.*).

Enzimas Plasmáticas

As enzimas plasmáticas são principalmente utilizadas como indicadores do funcionamento hepático (Almosny & Monteiro, *op. cit.*).

Fosfatase alcalina: hidrolisa fosfatos em pH alcalino, encontradas principalmente nos ossos, articulações, fígado e intestino. Sua concentração é maior em filhotes devido à alta atividade osteoblástica (Keer, 2003).

Alanina aminotransferase: transaminase encontrada no fígado, rins, pâncreas, músculo esquelético e músculo cardíaco (Hendrix, 2006).

Aspartato aminotransferase: é amplamente distribuída no organismo, encontrada principalmente no fígado, rins, pâncreas, músculo esquelético e músculo cardíaco (Keer, *op. cit.*; Hendrix, *op. cit.*).

Gama-glutamil transferase: ocorre principalmente no fígado, podendo ser encontrada também nos rins, pâncreas, intestino e células musculares (Keer, 2003; Hendrix, *op. cit.*).

Lactato desidrogenase: maior molécula proteica do organismo responsável por catalisar a interconversão reversível do lactato e do piruvato, sendo encontrada no músculo cardíaco, rins e fígado (Keer, *op. cit.*).

Amilase: responsável pela degradação do glicogênio em maltose. Encontrada principalmente no pâncreas, também é presente nas glândulas salivares e é excretada pelos rins (Keer, *op. cit.*).

Substâncias Nitrogenadas e Outros Metabólitos

Glicose: é um carboidrato comum no organismo, armazenado como glicogênio no fígado, e que serve de reservatório de energia química (Conn & Stumpf, 1975). Os níveis de glicose no sangue refletem o metabolismo dos carboidratos, a função endócrina do pâncreas e também o equilíbrio entre os níveis sanguíneos dos hormônios insulina e glucagon (Hendrix, *op. cit.*).

Uréia e ácido úrico: são produtos da degradação de aminoácidos no fígado, sendo que a uréia é o principal produto em mamíferos (Larner, 1974). Os níveis de uréia podem indicar função renal com base na capacidade dos rins em remover resíduo nitrogenado a partir do sangue. (Hendrix, *op. cit.*).

Creatinina: é formada a partir da creatina, que é responsável pelo armazenamento de fosfato de alta energia, particularmente em músculo cardíaco e

esquelético (Devlin, 2007). A quantidade de creatina do plasma está relacionada à massa muscular e também ao funcionamento renal adequado (Hendrix, 2006; Devlin, *op. cit.*).

Bilirrubina: é um subproduto da quebra da molécula de hemoglobina que se encontra no plasma na forma livre, bilirrubina indireta, ou conjugada à albumina, bilirrubina direta. Ela é transportada ao fígado onde se liga ao ácido glicurônico e é excretada na bile (Keer, 2003; Hendrix, *op. cit.*). Valores altos de bilirrubina total são indicadores de doenças hepáticas (Almosny & Monteiro, 2006).

Eletrólitos

O sódio e o potássio são os principais eletrólitos responsáveis pelo balanço hídrico do organismo, sendo indicadores do estado de hidratação e função renal (Keer, *op. cit.*). O sódio é o principal cátion do plasma e do fluido intersticial exercendo papel fundamental na regulação do equilíbrio ácido-básico. O potássio é o principal cátion intracelular, sendo fundamental para a função muscular normal, respiração, função cardíaca, transmissão de impulsos nervosos e metabolismo de carboidratos (Hendrix, *op. cit.*).

O estudo da bioquímica sanguínea tem o intuito de analisar os níveis séricos dos constituintes do plasma sanguíneo, que por sua vez fornecem informações importantes sobre as condições fisiológicas do indivíduo ou de sua população (Koopman *et al.*, 1995). Isto é importante em animais cativos para manejo e manutenção (Colares *et al.*, 1992). Assim, torna-se imprescindível conhecer os valores desses níveis séricos que correspondam ao estado saudável dos indivíduos da espécie.

Os parâmetros bioquímicos variam conforme a dieta que o animal ingere. Níveis altos de uréia foram observados em belugas (*Delphinapterus leucas*) que ingeriam dietas ricas em proteínas (St. Aubin *et al.*, 2001). Além disso, estes parâmetros do sangue variam de acordo com a espécie, suas necessidades fisiológicas e hábitat. Silva *et al.* (2007) encontraram valores baixos de fosfato, albumina, colesterol e triglicerídeos e valores altos de atividade da enzima aspartato transaminase para peixes-bois das

Antilhas cativos (*Trichechus manatus manatus*) quando comparados com espécimes de vida livre. Isso pode indicar ajustes fisiológicos de seu organismo para as condições de cativeiro ou alimentação oferecida com menor riqueza de nutrientes que o alimento natural. Hormônios sexuais também podem ocasionar variações nos parâmetros sanguíneos, por exemplo, Rosas *et al* (1999) encontraram variações nos níveis de minerais séricos em relação ao sexo.

Os valores séricos de cálcio e fosfatase alcalina do plasma sanguíneo tendem a ser maiores em animais jovens. Este fato é uma consequência da atividade metabólica mais elevada nesta fase da vida, além desses elementos estarem associados ao desenvolvimento contínuo dos ossos (Asper *et al.*, 1990; St. Aubin *et al.*, 2001; Mello, 2006). Asper *et al.* (*op. cit.*) verificaram em indivíduos mais jovens de golfinhos-nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*) níveis mais elevados de glicose, alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase e lactato desidrogenase. Também foram encontrados valores mais elevados para os níveis de proteínas do soro sanguíneo em belugas jovens (St. Aubin *et al.*, *op. cit.*).

O estado gestacional também causa variações nos parâmetros sanguíneos em fêmeas de vertebrados, principalmente nos parâmetros influenciados pelas variações hormonais como colesterol e triglicerídeos (Bossart & Dierauf, 2001). Portanto, é comum se encontrar níveis altos destes parâmetros sanguíneos em fêmeas prenhes.

1.1 Bioquímica sérica em *Trichechus inunguis*

Estudos realizados com alguns parâmetros bioquímicos do sangue do peixe-boi da Amazônia nos ajudam a entender um pouco de suas funções e alterações. No entanto, estes estudos necessitam serem complementados com uma análise mais robusta e detalhada destes parâmetros.

Os parâmetros bioquímicos variam conforme a dieta que o animal ingere. Maiores concentrações séricas de lipídeos, proteínas, albumina e globulina, por exemplo, foram observadas no peixe-boi da Amazônia quando acrescentado mururu (*Eichhornia crassipes*) à dieta dos animais que se alimentavam anteriormente apenas de capim colônia (*Brachiaria mutica*). Assim, estes parâmetros sanguíneos parecem ser

bons indicadores do estado nutricional do peixe-boi da Amazônia. Contudo, a uréia não aparenta ser um bom parâmetro para avaliação do estado nutricional, porque sua concentração no sangue não sofre grandes variações com a dieta ou estado fisiológico da espécie (Colares *et al.*, 1992).

Estes parâmetros do sangue variam de acordo com a espécie e suas necessidades fisiológicas. Colares *et al.* (2000) encontrou valores de glicose, proteínas totais, albumina e globulina do sangue de peixe-boi da Amazônia inferiores aos encontrados para o peixe-boi da Flórida (*Trichechus manatus latirostris*) (Manire *et al.*, 2003). Estas variações provavelmente ocorreram devido às diferenças do ambiente em que cada uma dessas espécies de peixes-bois vive. Por exemplo, os níveis de glicose podem aumentar em resposta à diminuição de temperatura que ocorre em determinadas épocas do ano em ambientes de clima temperado onde vive o peixe-boi da Flórida.

Rosas *et al.* (1999) analisaram o conteúdo sérico do sangue de nove peixes-bois da Amazônia cativos e cinco selvagens. Os animais de cativeiro apresentaram valores mais baixos do que aqueles de vida livre para os níveis séricos de zinco, magnésio, ferro, potássio e cálcio. Pôde-se concluir que esses minerais são bons indicadores do estado nutricional e, neste caso, demonstraram carência nutricional da dieta oferecida a esses animais na ocasião do estudo. Os níveis séricos de magnésio, ferro, potássio e cálcio foram menores em fêmeas de cativeiro quando comparados ao encontrado em machos, indicando diferença entre os sexos destes parâmetros.

Este estudo teve como objetivo caracterizar os parâmetros bioquímicos do peixe-boi da Amazônia em cativeiro com o intuito de estabelecer valores-referência para a espécie. Os objetivos específicos foram: verificar a ocorrência de variações significativas no soro sanguíneo entre os sexos e as diferentes classes etárias (filhotes, juvenis e adultos); comparar os parâmetros bioquímicos séricos entre filhotes machos amamentados com leite materno e filhotes machos amamentados com fórmula láctea artificial; comparar os parâmetros bioquímicos séricos entre fêmeas lactantes e fêmeas não-lactantes e fornecer subsídios para diagnosticar eventuais patologias ou carências nutricionais nesta espécie.

2. Material e Métodos

Os níveis séricos de proteínas e minerais, substâncias lipídicas, enzimas plasmáticas, substâncias nitrogenadas e outros metabólitos do sangue do peixe-boi da Amazônia foram determinados de forma automatizada utilizando kits da Labtest[®] e o aparelho Architect C800[®] Abbott Laboratories – USA (Fig.1). Todas as análises foram realizadas na Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Estado do Amazonas (HEMOAM) seguindo o protocolo dos Abbott Laboratories. Foram realizadas análises do soro sanguíneo de 84 indivíduos de *T. inunguis*, sendo 43 fêmeas (16 filhotes, 18 juvenis e 9 adultos) e 41 machos (13 filhotes, 15 juvenis e 13 adultos), entre os anos de 1993 e 2008.



Figura 1. Aparelho Architect C800[®] Abbott Laboratories – USA de análises bioquímicas.
Foto: Daniela M. D. Mello.

2.1 Proteínas Séricas

Albumina (g/dL): A leitura da albumina foi feita através da reação Verde de Bromocresol (190 $\mu\text{mol/L}$), e a concentração determinada pela absorbância da solução ao comprimento de onda de 604 nm.

Globulina (g/dL): A leitura é feita com um reagente cujo princípio ativo é uma suspensão de partículas de tamanho uniforme de látex de poliestireno (a 0,2%),

revestidos com fração de imunoglobulina (oriunda de soro de coelho). A concentração de globulina sérica foi medida pelo seu grau de aglutinação com o reagente.

Proteína Total (g/dL): Foi determinada pela reação de biureto utilizando um reagente composto por hidróxido de sódio (613 mmol/L) e sulfato de cobre (13,2 mmol/L). Em solução alcalina, os íons Cu^{++} se combinam com as proteínas através de suas ligações peptídicas formando um complexo de cor púrpura. A concentração de proteínas totais foi medida através da absorvância desta solução a um comprimento de onda de 545 nm.

2.2 Minerais Séricos

Ferro (mg/dL): A concentração deste mineral foi determinada pelo método colorimétrico. Em um pH de 4,8 o íon ferro é liberado da transferrina, a qual está ligado, e é então reduzido quantitativamente para o estado ferroso. Em seguida, é adicionado à solução um reagente cujo princípio ativo é um complexo estável com propriedade colorante, ferene (≥ 20 mmol/L), que se liga ao ferro na forma ferrosa. A intensidade da cor é proporcional à quantidade de ferro na amostra.

Cálcio (mg/dL): De maneira análoga ao ferro, o cálcio também foi determinado pelo método colorimétrico. Reação cromogênica com cresolftaleína complexona ($\geq 0,15$ mmol/L), que reage com o cálcio em uma solução ácida para formar um complexo de cor púrpura. A concentração de cálcio foi determinada pela absorvância da solução a um comprimento de onda de 660 nm.

Fósforo (mg/dL): Foi determinado a partir da reação do fósforo inorgânico com o molibdato de amônio (2,3 mmol/L), com formação de heteroácido fosfomolibdato inorgânico. A concentração do fósforo foi determinada pela absorvância da solução a 340 nm.

Magnésio (mg/dL): Como os demais minerais, o magnésio também foi determinado pelo método colorimétrico. O magnésio reage com o corante arsenato (0,13 mmol/L), que se liga ao magnésio. A absorvância do complexo arsenato-magnésio é medida utilizando-se um comprimento de onda de 572 nm, que é proporcional à concentração de magnésio presente na amostra.

Sódio (mEq/L) e **Potássio** (mEq/L): Dosagens realizadas com eletrodos seletivos de íons.

2.3 Substâncias Lipídicas

Colesterol Total (mg/dL): É determinado pela reação de Trinder, composta por uma sequência de reações enzimáticas da colesterol oxidase (> 200 U/L), colesterol esterase (> 500 U/L), e colesterol peroxidase (> 300 U/L), com formação de um composto cromatófilo (corante quinoneimínico). A absorvância deste composto foi lida a 500 nm para determinação da concentração sérica do colesterol.

Triglicerídeos (mg/dL): Foram dosados pela ação da enzima glicerol fosfato oxidase (> 6,000 U/L) e da peroxidase (> 2,000 U/L), produzindo peróxido de hidrogênio, que reage com a aminoantipitina e o clorofenol, dando uma cor vermelha à solução. A intensidade da cor é proporcional à quantidade de triglicerídeos na amostra.

2.4 Enzimas Plasmáticas

Todas as reações para determinação da atividade das enzimas séricas foram realizadas em temperatura de 37 °C. As enzimas foram analisadas pelo método cinético.

Fosfatase Alcalina- ALP (U/L): Hidrólise do 4-nitrofenil fosfato (> 171,6 mmol/L) em meio alcalino, formando 4-nitrofenol, composto de cor amarela, cuja absorvância de 404 nm é proporcional à atividade da fosfatase alcalina.

Alanina Aminotransferase- ALT (U/L): A taxa de reação de oxidação de nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzida (NADH) (0,16 mg/mL) em nicotinamida adenina dinucleotídeo oxidada (NAD⁺) é medida pela absorvância de 340 nm da solução, sendo diretamente proporcional à concentração de ALT.

Aspartato Aminotransferase- AST (U/L): Análogo ao utilizado para alanina aminotransferase.

Gama-glutamil transferase- GGT (U/L): Hidrólise de gama glutamil p-nitroanilina (30,6 mmol/L). A atividade enzimática é medida pela absorvância em 412 nm.

Lactato Desidrogenase- DHL (U/L): A taxa de reação de redução de NAD⁺ (30,8 mmol/L) em NADH é medida pela absorvância de 340 nm da solução, sendo diretamente proporcional à concentração de DHL.

Amilase (U/L): Reação Amilase-Iodo. Hidrólise de 2-cloro-4-nitrofenil- α -D-maltotriosídeo (2,25 mmol/L) liberando cloronitrofenil, cuja taxa de formação é determinada à 404 nm, sendo proporcional à atividade da amilase.

2.5 Substâncias Nitrogenadas e Outros Metabólitos

Glicose (mg/dL): Reação de Trinder, composta pelas atividades enzimáticas da hexoquinase, HK (3,0 U/mL) e da glucose-6-fosfato desidrogenase, G-6-PD (1,5 U/mL) até a formação de nicotinamida adenina dinucleotídeo-P (NADPH), cuja absorvância foi lida a 340 nm para determinação da concentração sérica de glicose.

Uréia (mg/dL): Reação Urease-Berthelot, com ação enzimática da urease (23,5 U/L) e da glutamato desidrogenase-GLD (63,5 U/L) com corrente oxidação de nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADH). A absorvância da solução foi lida a 340 nm para determinação da concentração sérica de uréia.

Ácido Úrico (mg/dL): Reação da uricase, com ação enzimática da uricase (> 120 U/L) e de peroxidases (> 500 U/L) produzindo composto quinoneimínico (cromatófilo). A absorvância da solução foi lida à 548 nm, para determinar a concentração de ácido úrico.

Creatinina (mg/dL): Reação de Jaffé-Pricato alcalino. Em pH alcalino, a creatinina da amostra reage com o pricato (20,5 mmol/L) formando o complexo creatinina-pricato. A absorvância da solução foi lida a 500 nm para determinar a concentração de creatinina.

Bilirrubina Total (mg/dL): Reação da bilirrubina com o reagente 2-4-dicloroanilina diazotada (0,81 g/L), para formar um componente colorido, a azobilirrubina. A reação é acelerada pela adição de um surfactante como agente solubilizador. A absorvância da solução foi lida a 548 nm para determinar a concentração de bilirrubina.

Bilirrubina Direta (mg/dL): Reação Diazoto. Reação da bilirrubina com o ácido sulfâmico (9,7 g/L) e o sal dicloroanilina diazotada (0,081 g/L), em que a bilirrubina direta forma um complexo colorido, a azobilirrubina. A absorvância da solução foi lida a 548 nm para determinar a concentração de bilirrubina.

Bilirrubina Indireta (mg/dL): Foi obtida pela subtração da bilirrubina direta pela bilirrubina total.

3. Resultados

3.1 Bioquímica do sangue do peixe-boi da Amazônia por classe etária e sexo

Classe etária em machos

Foram encontradas concentrações mais altas de fósforo em filhotes ($5,8 \pm 1,8$; $p < 0,05$) do que em adultos ($4,7 \pm 1,0$; $p < 0,05$) do mesmo sexo. As concentrações de creatinina foram menores ($1,1 \pm 0,3$; $p < 0,05$) em filhotes do que em juvenis ($1,6 \pm 0,2$; $p < 0,05$) e em adultos ($1,7 \pm 0,4$; $p < 0,05$) (Tabela 1, Figs. 2 e 3).

Tabela 1. Bioquímica sérica de machos de *T. inunguis* em cativeiro

Parâmetros	Classe Etária						
	Filhote		Juvenil		Adulto		
	Média \pm DP (mín-máx)	n	Média \pm DP (mín-máx)	n	Média \pm DP (mín-máx)	n	
Proteínas (g/dL)	Albumina	$4,6 \pm 0,3$ (4,0–4,9)	7	$4,4 \pm 0,6$ (2,9–4,9)	10	$3,7 \pm 1,2$ (2,3–5,6)	8
	Globulina	$2,5 \pm 1,2$ (1,4–4,5)	6	$2,1 \pm 0,8$ (1,3–3,5)	8	$3,1 \pm 1,7$ (1,0–5,1)	7
	Proteínas Totais	$6,2 \pm 1,4$ (4,5–8,2)	6	$6,3 \pm 0,9$ (4,9–7,8)	10	$6,9 \pm 1,0$ (4,9–8,2)	9
Minerais (mg/dL)	Ferro	$95,0 \pm 33,0$ (49,0–139,5)	10	$90,1 \pm 26,0$ (42,0–31,6)	15	$80,0 \pm 17,8$ (53,0–111,0)	13
	Cálcio	$9,5 \pm 1,2$ (7,5–11,2)	7	$9,6 \pm 1,3$ (8,0–11,9)	10	$9,1 \pm 1,0$ (7,8–10,0)	8
	Fósforo	$5,8 \pm 1,8$ (2,9–7,7) ^I	6	$5,3 \pm 1,3$ (4,5–6,8)	9	$4,7 \pm 1,0$ (4,3–5,1) ^{II}	4
	Magnésio	$15,2 \pm 22,0$ (2,3–40,8)	3	$2,7 \pm 0,3$ (2,3–3,1)	8	—	—
	Sódio (mEq/L)	—	—	$145,0 \pm 3,0$ (139,0–150,0)	6	—	—
	Potássio (mEq/L)	—	—	$5,6 \pm 0,6$ (4,8–6,6)	6	—	—
Lipídeos (mg/dL)	Colesterol	$208,0 \pm 37,0$ (155,0–261,0)	10	$150,7 \pm 39,0$ (94,0–257,0)	15	$153,0 \pm 28,0$ (123,0–220,0)	13
	Triglicerídeos	$93,0 \pm 28,4$ (66,0–162,0)	10	$95,0 \pm 29,5$ (59,0–153,0)	15	$98,0 \pm 28,7$ (64,0–163,0)	13
	Lipídeos Totais	$544,0 \pm 70,0$ (425,0–648,0)	7	$528,0 \pm 49,0$ (454,0–625,0)	14	$554,0 \pm 58,0$ (475,0–632,0)	10

Tabela 1. Continuação

Parâmetros	Classe Etária						
	Filhote		Juvenil		Adulto		
	Média \pm DP (mín-máx)	n	Média \pm DP (mín-máx)	n	Média \pm DP (mín-máx)	n	
Enzimas (U/L)	ALP	79,8 \pm 29,0 (38,0–129,0)	10	62,3 \pm 32,0 (27,0–130,0)	14	46,3 \pm 17,8 (32,0–98,0)	11
	ALT	6,7 \pm 3,0 (3,0–10,0)	7	11,6 \pm 8,2 (5,5–32,0)	10	7,9 \pm 3,7 (2,7–13,0)	9
	AST	13,2 \pm 8,3 (4,0–26,0)	7	13,0 \pm 8,6 (6,0–33,0)	12	8,5 \pm 4,0 (4,7–19,0)	11
	GGT	41,4 \pm 4,8 (37,0–52,0)	8	46,5 \pm 9,8 (33,0–68,0)	14	45,2 \pm 7,2 (32,0–62,0)	13
	DHL	200,0 \pm 53,0 (155,0–305,0)	7	267,0 \pm 116,0 (141,0–504,0)	14	282,0 \pm 128,0 (134,0–573,0)	13
	Amilase	1118,0 \pm 236,0 (789,0–1473,0)	6	1079,0 \pm 174,0 (761,0–1394,0)	12	1164,0 \pm 337,0 (686,0–1526,0)	7
Metabólitos (mg/dL)	Uréia	39,9 \pm 5,9 (35,0–52,0)	10	30,7 \pm 6,3 (19,0–40,2)	19	34,8 \pm 7,7 (20,0–48,0)	9
	Ácido Úrico	0,7 \pm 0,6 (0,1–1,6)	7	0,7 \pm 0,2 (0,3–1,3)	14	0,9 \pm 0,5 (0,3–1,5)	5
	Glicose	51,0 \pm 13,6 (32,0–70,0)	10	49,9 \pm 10,4 (35,0–66,0)	18	50,8 \pm 12,1 (35,0–74,0)	8
	Creatinina	1,1 \pm 0,3 (0,8–1,7) ^I	7	1,6 \pm 0,2 (1,2–2,0) ^{II}	12	1,7 \pm 0,4 (1,4–2,2) ^{II}	4
	Bilirrubina Direta	0,18 \pm 0,0 (0,0–0,1)	10	0,02 \pm 0,0 (0,0–0,1)	17	0,05 \pm 0,0 (0,0–0,1)	8
	Bilirrubina Indireta	0,06 \pm 0,1 (0,0–0,1)	9	0,03 \pm 0,0 (0,0–0,1)	16	0,04 \pm 0,0 (0,0–0,1)	9
	Bilirrubina Total	0,14 \pm 0,1 (0,0–0,2)	10	0,05 \pm 0,1 (0,0–0,2)	17	0,08 \pm 0,1 (0,0–0,2)	9

Fosfatase alcalina (ALP), alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), gama-glutamil transferase (GGT) e lactato desidrogenase (DHL). n= n° de animais analisados; DP= desvio-padrão da média; mín-máx= valor mínimo e valor máximo. I; II = Números romanos diferentes indicam valores estatisticamente diferentes (p < 0,05).

Classe etária em fêmeas

A análise quantitativa de globulina ($2,2 \pm 0,7$; $p < 0,05$) e lipídeos totais ($638,0 \pm 127,0$; $p < 0,05$) dos filhotes foram mais elevadas no sangue circulante quando comparados aos indivíduos juvenis (globulina = $1,5 \pm 0,2$; $p < 0,05$ / lipídeos totais = $509,0 \pm 33,0$; $p < 0,05$) (Tabela 2, Fig. 2).

Os níveis de ALP ($74,6 \pm 34,5$; $p < 0,05$) e colesterol ($284,0 \pm 87,8$; $p < 0,05$) em filhotes foram maiores que os níveis desses parâmetros em juvenis (ALP = $55,0 \pm 27,2$; $p < 0,05$ / colesterol = $136,0 \pm 22,0$; $p < 0,05$) e adultos (ALP = $51,0 \pm 18,0$; $p < 0,05$ / colesterol = $156,0 \pm 45,2$; $p < 0,05$). Já os níveis de fósforo diminuíram de acordo com a classe etária (filhote = $6,1 \pm 1,0$; $p < 0,05$ / juvenil = $5,1 \pm 0,6$; $p < 0,05$ / adulto = $4,9 \pm 0,5$; $p < 0,05$) (Tabela 2, Fig. 2).

A concentração de creatinina ($1,2 \pm 0,4$; $p < 0,05$) e ALT ($4,2 \pm 4,7$; $p < 0,05$) em filhotes foi menor do que em indivíduos juvenis (creatinina = $1,6 \pm 0,2$; $p < 0,05$ / ALT = $11,4 \pm 4,8$; $p < 0,05$) e adultos (creatinina = $1,7 \pm 0,4$; $p < 0,05$ / ALT = $6,0 \pm 2,9$; $p < 0,05$) (Tabela 2, Figs. 2 e 3).

Filhotes apresentaram concentrações de bilirrubina direta ($0,1 \pm 0,1$; $p < 0,05$) e bilirrubina total ($0,2 \pm 0,2$; $p < 0,05$) maiores que os animais juvenis (bilirrubina direta = $0,02 \pm 0,0$; $p < 0,05$ / bilirrubina total = $0,05 \pm 0,1$; $p < 0,05$) e adultos (bilirrubina direta = $0,05 \pm 0,0$; $p < 0,05$ / bilirrubina total = $0,1 \pm 0,1$; $p < 0,05$) (Tabela 2, Fig. 3).

Tabela 2. Bioquímica sérica de fêmeas de *T. inunguis* em cativeiro

Parâmetros	Classe Etária						
	Filhote		Juvenil		Adulto		
	Média ± DP (mín-máx)	n	Média ± DP (mín-máx)	n	Média ± DP (mín-máx)	n	
Proteínas (g/dL)	Albumina	4,2 ± 1,1 (2,7–5,4)	11	4,3 ± 1,1 (2,2–5,2)	14	4,0 ± 1,0 (2,6–5,0)	5
	Globulina	2,2 ± 0,7 (0,6–3,1) ^I	11	1,5 ± 0,2 (0,9–1,7) ^{II}	11	2,0 ± 0,4 (1,5–2,4)	4
	Proteínas Totais	6,3 ± 0,8 (4,9–7,3)	11	6,3 ± 0,3 (5,7–6,8)	13	6,8 ± 0,4 (6,5–7,5)	5
Minerais (mg/dL)	Ferro	96,0 ± 75,3 (25,0–264,0)	15	64,0 ± 0,3 (33,0–113,4)	17	66,0 ± 23,2 (40,0–103,3)	8
	Cálcio	9,7 ± 1,4 (7,9–12,0)	12	9,1 ± 0,9 (7,7–10,5)	13	9,2 ± 1,4 (7,1–10,3)	5
	Fósforo	6,1 ± 1,0 (4,1–7,4) ^I	12	5,1 ± 0,6 (4,1–6,1) ^{II}	13	4,9 ± 0,5 (3,7–5,2) ^{III}	5
	Magnésio	3,2 ± 0,7 (2,6–4,3)	6	2,7 ± 0,2 (2,4–3,2)	12	2,7 ± 0,3 (2,5–3,2)	5
	Sódio (mEq/L)	148,0 ± 2,0 (145,0–149,0)	4	145,0 ± 4,0 (133,5–150,0)	13	—	—
	Potássio (mEq/L)	4,7 ± 0,3 (4,4–5,1)	4	6,0 ± 1,4 (4,9–10,0)	11	—	—
Lipídeos (mg/dL)	Colesterol	284,0 ± 87,8 (126,0–435,0) ^I	15	136,0 ± 22,0 (102,0–182,5) ^{II}	19	156,0 ± 45,2 (89,0–249,0) ^{II}	9
	Triglicerídeos	113,0 ± 87,8 (47,0–191,0)	15	90,2 ± 24,3 (61,0–139,0)	18	91,6 ± 35,0 (43,3–158,0)	9
	Lipídeos Totais	638,0 ± 127,0 (425,0–787,0) ^I	10	509,0 ± 33,0 (463,0–564,0) ^{II}	15	534,0 ± 70,0 (417,0–680,0)	9

Tabela 2. Continuação

Parâmetros	Classe Etária						
	Filhote		Juvenil		Adulto		
	Média ± DP (mín-máx)	n	Média ± DP (mín-máx)	n	Média ± DP (mín-máx)	n	
Enzimas (U/L)	ALP	74,6 ± 34,5 (33,0–144,0) ^I	16	55,0 ± 27,2 (27,0–107,5) ^{II}	16	51,0 ± 18,0 (31,0–82,0) ^{II}	8
	ALT	4,2 ± 4,7 (1,0–17,3) ^I	13	11,4 ± 4,8 (1,0–19,0) ^{II}	14	6,0 ± 2,9 (3,1–10,0) ^{II}	5
	AST	8,6 ± 5,0 (3,0–18,0)	14	8,5 ± 2,9 (5,0–14,0)	16	7,5 ± 2,3 (3,5–9,0)	5
	GGT	47,5 ± 11,6 (28,0–74,0)	14	48,2 ± 13,0 (28,0–71,0)	18	7,5 ± 2,3 (3,5–9,0)	9
	DHL	319,0 ± 150,0 (143,0–557,0)	14	213,6 ± 112,0 (111,0–539,0)	18	254,0 ± 115,5 (129,0–459,0)	8
	Amilase	1016,0 ± 298,0 (620,0–1622,0)	9	1086,0 ± 197,0 (822,0–1423,0)	16	1013,0 ± 195,0 (697,0–1280,0)	7
Metabólitos (mg/dL)	Uréia	39,1 ± 11,4 (21,0–56,0)	14	30,7 ± 6,3 (19–40,2)	19	34,8 ± 7,7 (20,0–48,0)	9
	Ácido Úrico	0,4 ± 0,2 (0,1–0,7)	12	0,7 ± 0,2 (0,3–1,3)	14	0,9 ± 0,5 (0,3–1,5)	5
	Glicose	54,1 ± 23,1 (34,0–119,0)	15	49,9 ± 10,4 (35,0–66,0)	18	50,8 ± 12,0 (35,0–74,0)	8
	Creatinina	1,2 ± 0,4 (0,8–2,2) ^I	13	1,6 ± 0,2 (1,2–2,0) ^{II}	12	1,7 ± 0,4 (1,4–2,2) ^{II}	4
	Bilirrubina Direta	0,1 ± 0,1 (0,0–0,4) ^I	13	0,02 ± 0,0 (0,0–0,1) ^{II}	17	0,05 ± 0,0 (0,0–0,1) ^{II}	8
	Bilirrubina Indireta	0,1 ± 0,1 (0,0–0,3)	14	0,03 ± 0,0 (0,0–0,1)	16	0,04 ± 0,0 (0,0–0,1)	9
	Bilirrubina Total	0,2 ± 0,2 (0,0–0,7) ^I	14	0,05 ± 0,1 (0,0–0,2) ^{II}	17	0,1 ± 0,1 (0,0–0,2) ^{II}	9

Fosfatase alcalina (ALP), alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), gama-glutamil transferase (GGT) e lactato desidrogenase (DHL). n= n° de animais analisados; DP= desvio-padrão da média. I; II = Números romanos diferentes indicam valores estatisticamente diferentes (p < 0,05).

Machos X Fêmeas

Quando os sexos foram comparados entre si, observou-se que a concentração das enzimas ALP ($62,3 \pm 32,0$; $p < 0,05$) e ALT ($11,6 \pm 8,2$; $p < 0,05$) no sangue de machos juvenis foram maiores do que as concentrações destas enzimas no sangue de fêmeas juvenis (ALP= $55,0 \pm 27,2$; $p < 0,05$ / ALT= $11,4 \pm 4,8$; $p < 0,05$) (Fig. 2).

Os metabólitos bilirrubina direta e bilirrubina total foram mais concentrados em filhotes (bilirrubina direta= $0,18 \pm 0,0$; $p < 0,05$ / bilirrubina total= $0,14 \pm 0,1$; $p < 0,05$) e juvenis (bilirrubina direta= $0,02 \pm 0,0$; $p < 0,05$ / bilirrubina total= $0,05 \pm 0,1$; $p < 0,05$) machos do que em filhotes fêmeas (bilirrubina direta= $0,1 \pm 0,1$; $p < 0,05$ / bilirrubina total= $0,2 \pm 0,2$; $p < 0,05$) e juvenis fêmeas (bilirrubina direta= $0,02 \pm 0,0$; $p < 0,05$ / bilirrubina total= $0,05 \pm 0,1$; $p < 0,05$) (Figs. 3).

Os demais parâmetros não citados não apresentaram diferença significativa entre as classes etárias e os sexos.

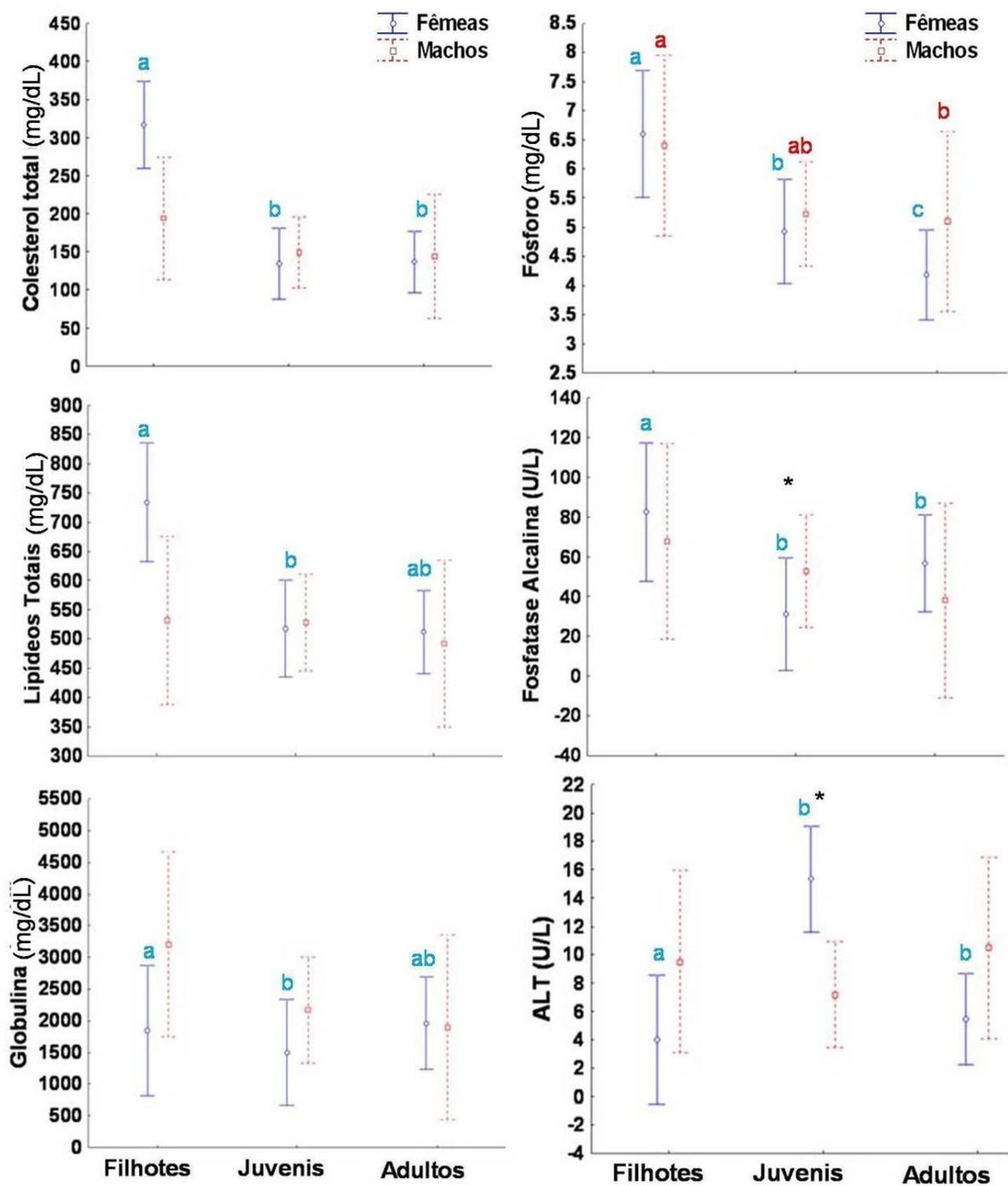


Figura 2. Colesterol total, lipídeos totais, globulina, fósforo, fosfatase alcalina (ALP) e alanina aminotransferase (ALT) no sangue de *T. inunguis* por sexo nas diferentes classes etárias. Os valores plotados representam a média \pm o desvio-padrão. A, b, c: letras diferentes estão indicando diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as classes etárias apenas em fêmeas (cor azul) ou apenas em machos (cor vermelha). Ab: classe etária que não se diferiu estatisticamente ($p < 0,05$) das demais. *: Parâmetros que apresentaram diferenças estatísticas entre os sexos ($p < 0,05$).

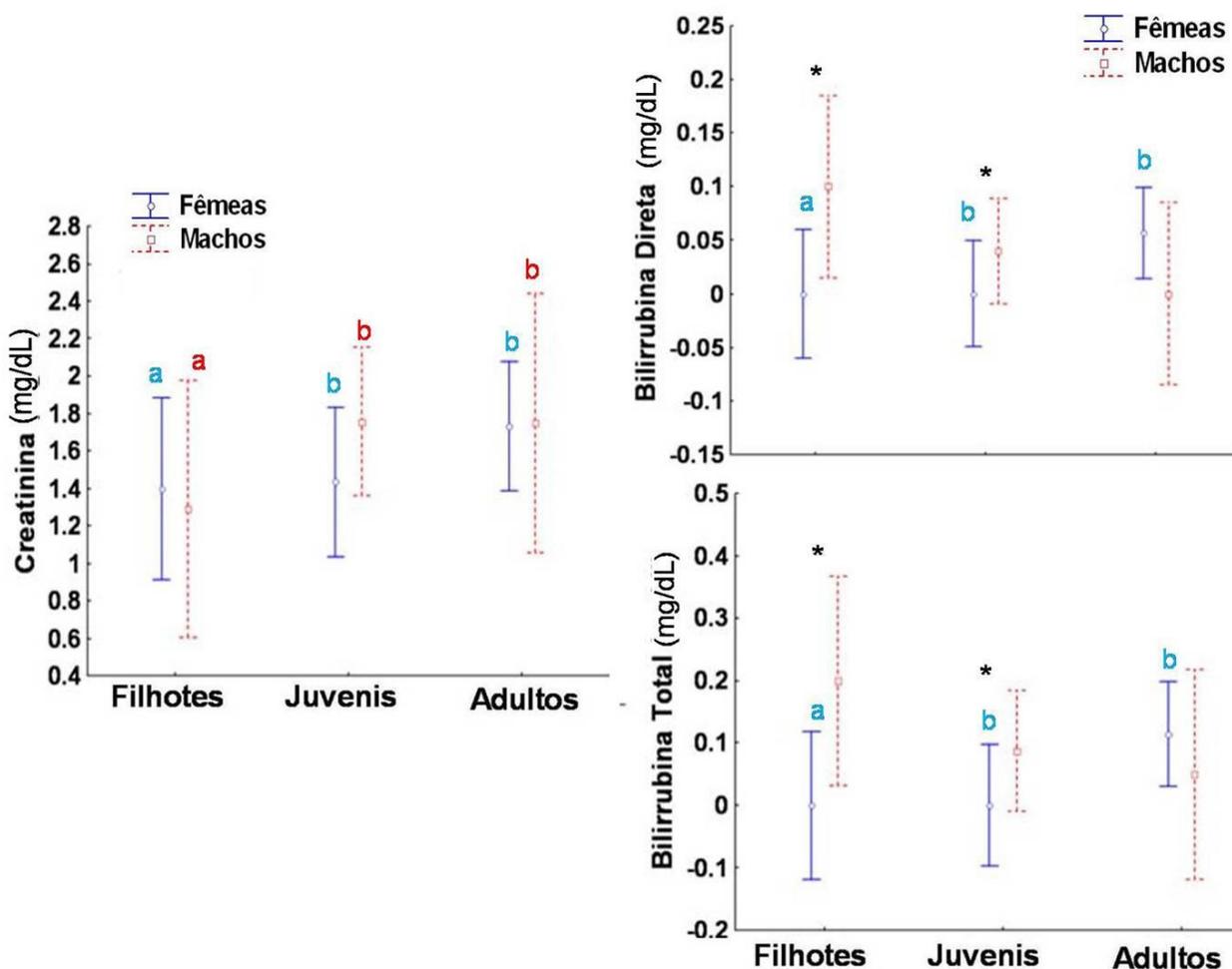


Figura 3. Creatinina, bilirrubina total e bilirrubina direta no sangue de *T. inunguis* por sexo nas diferentes classes etárias. Os valores plotados representam a média \pm o desvio-padrão. A, b, c: letras diferentes estão indicando diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as classes etárias apenas em fêmeas (cor azul) ou apenas em machos (cor vermelha). Ab: classe etária que não se diferiu estatisticamente ($p < 0,05$) das demais. *: Parâmetros que apresentaram diferenças estatísticas entre os sexos ($p < 0,05$).

3.2 Bioquímica do sangue de filhotes machos amamentados com leite materno e com fórmula láctea artificial

Os filhotes machos de *T. inunguis* amamentados com fórmula láctea artificial apresentaram maior concentração de uréia (Fórmula láctea artificial= $39,9 \pm 5,9$; $p < 0,05$ / Leite materno= $30,4 \pm 4,4$; $p < 0,05$) e da enzima GGT (Fórmula láctea artificial= $41,4 \pm 4,8$; $p < 0,05$ / Leite materno= $30,0 \pm 6,6$; $p < 0,05$) no sangue (Tabela 3, Fig. 4).

Foram encontrados valores mais baixos em filhotes amamentados com fórmula láctea artificial nos níveis de ferro (Fórmula láctea artificial= $94,9 \pm 32,8$; $p < 0,05$ / Leite materno= $153,0 \pm 28,0$; $p < 0,05$), colesterol (Fórmula láctea artificial= $208,0 \pm 36,6$; $p < 0,05$ / Leite materno= $356,7 \pm 56,0$; $p < 0,05$), triglicerídeos (Fórmula láctea artificial= $93,1 \pm 28,4$; $p < 0,05$ / Leite materno= $171,0 \pm 29,4$; $p < 0,05$), DHL (Fórmula láctea artificial= $200,0 \pm 53,0$; $p < 0,05$ / Leite materno= $336,0 \pm 52,0$; $p < 0,05$), bilirrubina total (Fórmula láctea artificial= $0,14 \pm 0,1$; $p < 0,05$ / Leite materno= $0,3 \pm 0,1$; $p < 0,05$) e bilirrubina indireta (Fórmula láctea artificial= $0,06 \pm 0,1$; $p < 0,05$ / Leite materno= $0,2 \pm 0,1$; $p < 0,05$) no sangue (Tabela 3, Fig. 4).

Tabela 3. Bioquímica sérica de filhotes machos de *T. inunguis* amamentados com leite materno e fórmula láctea artificial.

Parâmetros	Dieta				
	Leite materno		Fórmula láctea artificial		
	Média \pm DP (mín-máx)	n	Média \pm DP (mín-máx)	n	
Proteínas (g/dL)	Albumina	$3,7 \pm 0,7$ (3,2–4,6)	3	$4,6 \pm 0,3$ (4,0–4,9)	7
	Globulina	$2,7 \pm 0,5$ (2,4–3,1)	3	$2,5 \pm 1,2$ (1,4–4,5)	6
	Proteínas Totais	$6,6 \pm 0,4$ (6,3–7)	3	$6,2 \pm 1,4$ (4,5–8,2)	6
Minerais (mg/dL)	Ferro*	$153,0 \pm 28,0$ (130,0–184,0)	3	$94,9 \pm 32,8$ (49,0–139,5)	10
	Cálcio	$9,7 \pm 1,9$ (7,7–11,4)	3	$9,5 \pm 1,2$ (7,5–11,2)	7
	Fósforo	$6,4 \pm 1,1$ (5,6–7,6)	3	$5,8 \pm 1,8$ (2,9–7,7)	6
	Magnésio	$2,3 \pm 0,0$ (2,2–2,3)	3	$15,2 \pm 22,0$ (2,3–40,8)	3
	Sódio (mEq/L)	—	—	—	—
	Potássio (mEq/L)	—	—	—	—
	Lípidos (mg/dL)	Colesterol*	$356,7 \pm 56,0$ (292,0–392,0)	3	$208,0 \pm 36,6$ (155,0–261,0)
Triglicerídeos*		$171,0 \pm 29,4$ (140,0–198,5)	3	$93,1 \pm 28,4$ (66,0–162,3)	10
Lípidos Totais		$1161,0 \pm 373,0$ (897,0–1425,0)	3	$544,4 \pm 69,5$ (425,0–648,0)	7

Tabela 3. Continuação

Parâmetros	Dieta				
	Leite materno		Fórmula láctea artificial		
	Média ± DP (mín-máx)	n	Média ± DP (mín-máx)	n	
Enzimas (U/L)	ALP	156,0 ± 99,5 (55,0–254,0)	3	79,8 ± 29,0 (38,0–129,0)	10
	ALT	2,5 ± 1,3 (1,0–3,5)	3	6,7 ± 3,0 (3,0–10,0)	7
	AST	7,4 ± 2,3 (5,0–9,7)	3	13,2 ± 8,3 (4,0–26,0)	7
	GGT*	30,0 ± 6,6 (25,3–34,6)	3	41,4 ± 4,8 (37,0–52,0)	8
	DHL*	336,0 ± 52,0 (281,0–385,0)	3	200,0 ± 53,0 (155,0–305,0)	7
	Amilase	1086,0 ± 286,0(911,0–1416,0)	3	1118,0 ± 236,0 (789,0–1473,0)	6
	Uréia*	30,4 ± 4,4 (26,0–34,8)	3	39,9 ± 5,9 (35,0–52,0)	10
Metabólitos (mg/dL)	Ácido Úrico	0,5 ± 0,3 (0,2–0,9)	3	0,7 ± 0,6 (0,1–1,6)	7
	Glicose	62,8 ± 17,8 (44,0–79,3)	3	51,0 ± 13,6 (32,0–70,0)	10
	Creatinina	1,3 ± 0,4 (1,1–1,8)	3	1,1 ± 0,3 (0,8–1,7)	7
	Bilirrubina Direta	0,2 ± 0,1 (0,1–0,3)	3	0,18 ± 0,0 (0,0–0,1)	10
	Bilirrubina Indireta*	0,2 ± 0,1 (0,1–0,3)	3	0,06 ± 0,1 (0,0–0,1)	9
	Bilirrubina Total*	0,3 ± 0,1 (0,2–0,4)	3	0,14 ± 0,1 (0,0–0,2)	10

Fosfatase alcalina (ALP), alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), gama-glutamil transferase (GGT) e lactato desidrogenase (DHL). n= n° de animais analisados; DP= desvio-padrão da média; mín-máx= valor mínimo e valor máximo. *= Parâmetros hematológicos que diferiram significativamente (p < 0,05).

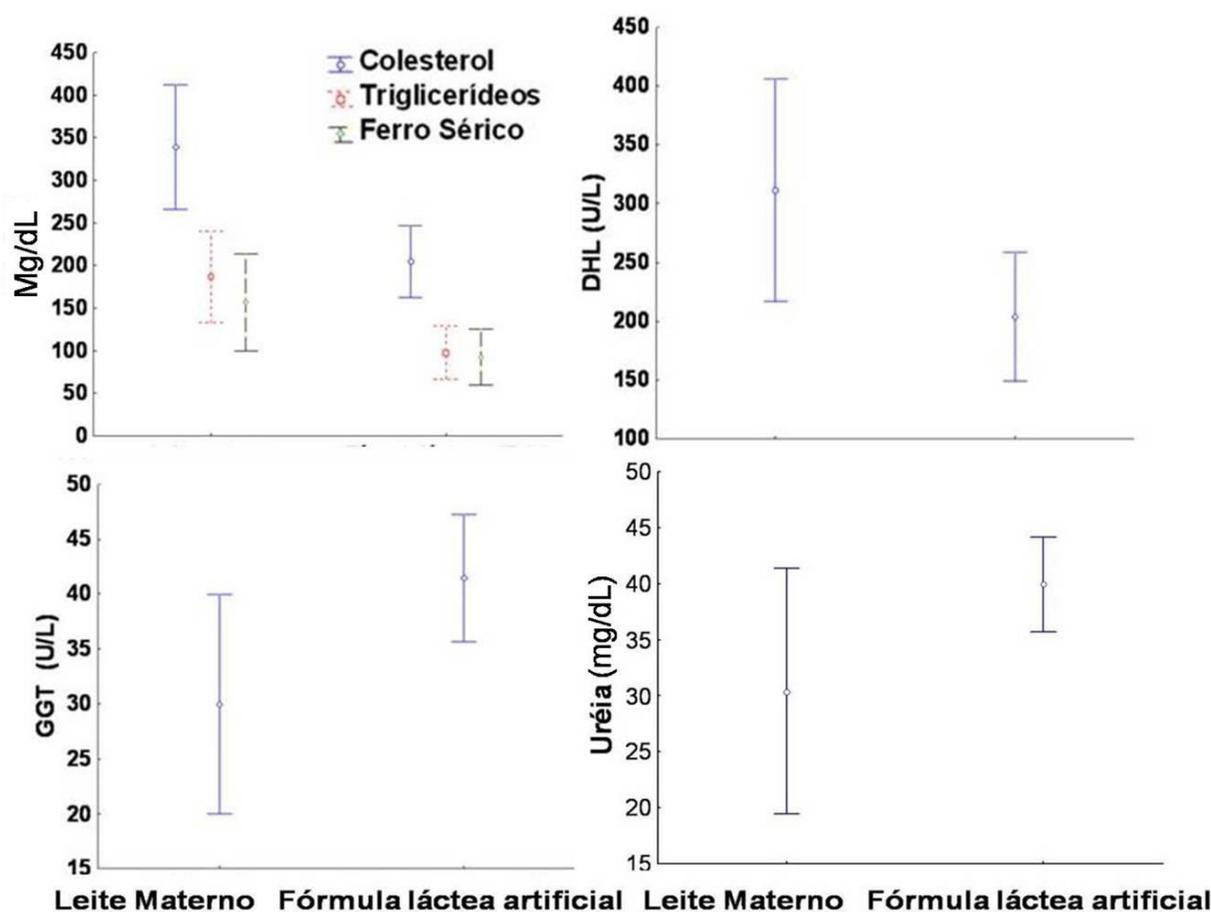


Figura 4. Colesterol total, triglicerídeos, ferro sérico, lactato desidrogenase (DHL) e gama-glutamil transferase (GGT) no sangue de filhotes machos amamentados com leite materno e com fórmula láctea artificial. Os valores plotados representam a média \pm o desvio-padrão.

3.3 Bioquímica do sangue de fêmeas lactantes

Fêmeas adultas lactantes apresentaram valores mais baixos de triglicerídeos (Lactantes= $37,4 \pm 16,9$; $p < 0,05$ / Não-lactantes= $91,6 \pm 35,0$; $p < 0,05$) e valores mais altos de bilirrubina total ($0,2 \pm 0,0$; $p < 0,05$ / Não-lactantes= $0,1 \pm 0,1$; $p < 0,05$) e bilirrubina indireta ($0,1 \pm 0,0$; $p < 0,05$ / Não-lactantes= $0,04 \pm 0,0$; $p < 0,05$) (Tabela 4, Fig. 5).

Tabela 4. Bioquímica sérica de fêmeas adultas lactantes e não-lactantes de *T. inunguis* em cativeiro

Parâmetros	Estado Fisiológico				
	Lactantes		Não-Lactantes		
	Média \pm DP (mín-máx)	n	Média \pm DP (mín-máx)	n	
Proteínas (g/dL)	Albumina	3,6 \pm 1,3 (2,6–5,0)	3	4,0 \pm 1,0 (2,6–5,0)	5
	Globulina	3,6 \pm 3,1 (1,4–5,8)	3	2,0 \pm 0,4 (1,5–2,4)	4
	Proteínas Totais	6,3 \pm 0,2 (6,2–6,4)	3	6,8 \pm 0,4 (6,5–7,5)	5
Minerais (mg/dL)	Ferro	105,6 \pm 44,3 (67,0–154,0)	3	66,0 \pm 23,2 (40,0–103,3)	8
	Cálcio	11,8 \pm 2,7 (10,2–14,9)	3	9,2 \pm 1,4 (7,1–10,3)	5
	Fósforo	4,2 \pm 0,3 (3,9–4,4)	3	4,9 \pm 0,5 (3,7–5,2)	5
	Magnésio	3,2 \pm 1,3 (2,3–4,1)	3	2,7 \pm 0,3 (2,5–3,2)	5
	Sódio (mEq/L)	—		—	—
	Potássio (mEq/L)	—		—	—
Lipídeos (mg/dL)	Colesterol	140,3 \pm 68,6 (93,0–219,0)	3	156,1 \pm 45,2 (8,0–249,0)	9
	Triglicerídeos*	37,4 \pm 16,9 (18,0–49,1)	3	91,6 \pm 35,0 (43,3–158,0)	9
	Lipídeos Totais	430,0 \pm 151,0 (323,0–537,0)	3	534,5 \pm 70,0 (417,0–680,0)	9

Tabela 4. Continuação

Parâmetros	Estado Fisiológico				
	Lactantes		Não-Lactantes		
	Média ± DP (mín-máx)	n	Média ± DP (mín-máx)	n	
Enzimas (U/L)	ALP	55,0 ± 10,0 (45,0–64,4)	3	51,0 ± 18,0 (31–82)	8
	ALT	5,1 ± 2,7 (3,0–8,2)	3	6,0 ± 2,9 (3,1–10,0)	5
	AST	7,8 ± 1,3 (7,0–9,3)	3	7,5 ± 2,3 (3,5–9,0)	5
	GGT	54,7 ± 13,0 (45,0–64,0)	3	7,5 ± 2,3 (3,5–9,0)	9
	DHL	534,0 ± 209,0 (394,0–774,0)	3	254,0 ± 115,5 (129,0–459,0)	8
	Amilase	1227,0 ± 238,0 (999,0–1474,0)	3	1013,0 ± 195,0 (697,0–1280,0)	7
	Uréia	42,5 ± 3,0 (39,0–44,5)	3	34,8 ± 7,7 (20,0–48,0)	9
Minerais (mg/dL)	Ácido Úrico	0,7 ± 0,5 (0,3–1,3)	3	0,9 ± 0,5 (0,3–1,5)	5
	Glicose	48,6 ± 7,6 (43,3–54,0)	3	50,8 ± 12,0 (35,0–74,0)	8
	Creatinina	1,8 ± 0,3 (1,5–2,1)	3	1,7 ± 0,4 (1,4–2,2)	4
	Bilirrubina Direta	0,1 ± 0,0 (0,1–0,1)	3	0,05 ± 0,0 (0,0–0,1)	8
	Bilirrubina Indireta*	0,1 ± 0,0 (0,1–0,1)	3	0,04 ± 0,0 (0,0–0,1)	9
	Bilirrubina Total*	0,2 ± 0,0 (0,19–0,2)	3	0,1 ± 0,1 (0,0–0,2)	9

Fosfatase alcalina (ALP), alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), gama-glutamil transferase (GGT) e lactato desidrogenase (DHL). n= n° de animais analisados. DP= desvio-padrão da média; mín-máx= valor mínimo e valor máximo. *= Parâmetros hematológicos que diferiram significativamente (p < 0.05).

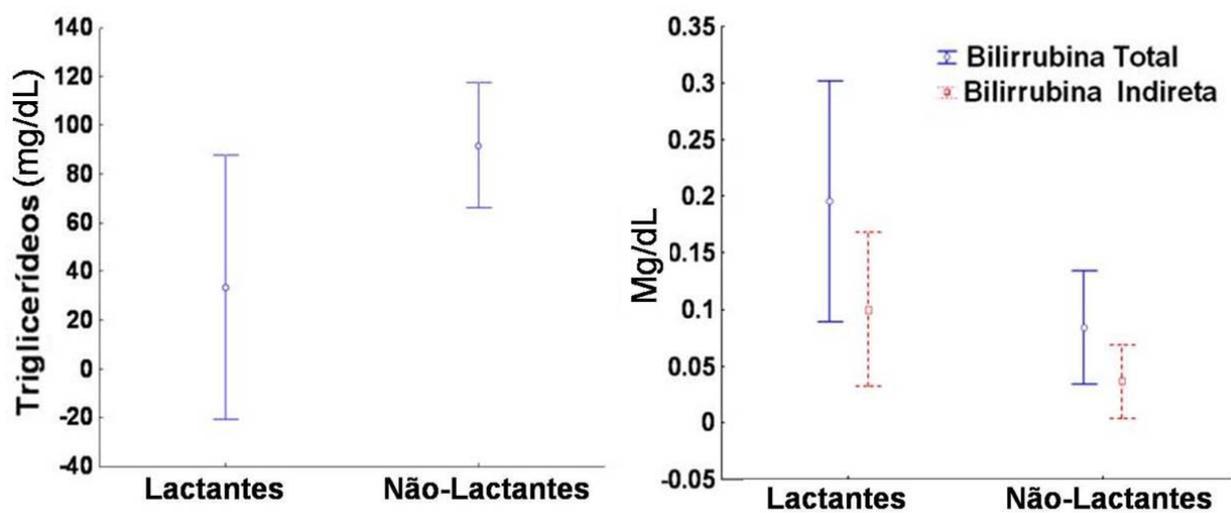


Figura 5. Triglicerídeos, bilirrubina total e bilirrubina indireta no sangue de fêmeas adultas lactantes e não-lactantes de *T. inunguis*. Os valores plotados representam a média \pm o desvio-padrão.

4. Discussão

4.1 Influência etária nos parâmetros bioquímicos

As transformações que ocorrem no organismo dos indivíduos durante seu desenvolvimento e crescimento ao longo da vida serão refletidas nos compostos bioquímicos presentes no sangue. Por exemplo, os componentes energéticos, para suprir a alta demanda energética para o crescimento e formação de tecidos, as enzimas responsáveis pela formação de tecido ósseo e o aumento dos níveis de metabólitos e reações celulares, dentre uma infinidade de outros processos (Keer, 2003; Nelson & Cox, 2005; Schalm *et al.*, 1975). Indivíduos mais jovens necessitarão de concentrações mais elevadas de energia para suprir seu metabolismo, portanto, esta pode ser uma justificativa para os altos níveis de colesterol, triglicerídeos e lipídeos totais encontrados nos jovens deste estudo. Resultados semelhantes foram observados no golfinho-nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*) (Hall *et al.*, 2007).

A ALP é uma enzima produzida nos ossos, fígado e placenta (Stevens & Lowe, 2001) que desfosforila diversas moléculas como os nucleotídeos e as proteínas, liberando grupos fosfato dessas moléculas (Nelson & Cox, *op. cit.*). Esses grupos fosfato são necessários para a formação dos ossos durante o crescimento. Isto explica a influência da idade na diminuição dos níveis de fosfatase alcalina neste trabalho. Variações semelhantes nesta enzima foram encontradas na lontra (*Lutra lutra*) (Lewis *et al.*, 1998), no golfinho-nariz-de-garrafa (Asper *et al.*, 1990; Hall *et al.*, 2007), no boto-vermelho (*Inia geoffrensis*) (Mello, 2006), na beluga (*Delphinapterus leucas*) (St. Aubin *et al.*, 2001) e no hyrax (*Procavia capensis*) (Aroch *et al.*, 2007).

Assim como a ALP, o fósforo e o cálcio são necessários para a formação dos ossos, sendo encontrados em concentrações mais elevadas no sangue circulante de animais jovens (Stevens & Lowe, *op. cit.*). Além disso, o fosfato é essencial para a formação dos principais compostos energéticos (Adenosina trifosfato, ATP e guanosina trifosfato, GTP) necessários em maior quantidade para o crescimento e desenvolvimento do indivíduo (Nelson & Cox, *op. cit.*). Esta é uma razão provável para a elevada concentração desses minerais no sangue de filhotes e juvenis deste trabalho,

bem como em outras espécies de mamíferos (Aroch *et al.*, 2007, Hall *et al.*, 2007; Lewis *et al.*, 1998; Mello, 2006).

A alanina aminotransferase é uma das enzimas responsáveis pela degradação de aminoácidos. Esta enzima é encontrada principalmente no fígado, sendo responsável pela conversão do aminoácido alanina em piruvato, produzindo energia para suprir o gasto energético do organismo (Larner, 1974). A necessidade energética de animais jovens é maior em consequência da alta atividade metabólica devido ao crescimento do indivíduo. Assim, quanto maior for o gasto energético do organismo, mais moléculas de alanina aminotransferase serão utilizadas no fígado para degradação de proteínas adquiridas na alimentação e menor será a concentração sérica desta enzima. Esta pode ser a causa da menor concentração desta enzima observada no sangue de animais mais jovens neste trabalho. Resultado semelhante foi observado na lontra (Lewis *et al.*, *op. cit.*) e no golfinho nariz-de-garrafa (Asper *et al.*, 1990), corroborando esta hipótese.

A creatinina é um produto da degradação da proteína creatina, importante na ressíntese do ATP em estágios iniciais do gasto energético (Bacila, 1980). Ela é um metabólito resultante da atividade muscular esquelética e, sua concentração irá variar de acordo com a massa muscular do indivíduo (Bossart & Dierauf, 2001). Desta forma, a maior concentração de creatinina observada nos peixes-bois juvenis e adultos é provavelmente devido à maior massa muscular destes animais quando comparados com os filhotes. Semelhante resultado também foi observado em indivíduos maiores de golfinhos-nariz-de-garrafa (Hall *et al.*, *op. cit.*) e lontras (Lewis *et al.*, *op. cit.*).

Animais mais jovens necessitam de grande quantidade de oxigênio para suprir o alto consumo energético durante o crescimento e desenvolvimento do organismo (Schalm *et al.*, 1975). Isto acaba ocasionando uma grande produção de hemácias e, conseqüentemente, de mais moléculas de hemoglobina. Considerando que a bilirrubina é um metabólito sérico, sendo produzida pela degradação de moléculas de hemoglobina das hemácias, sua concentração provavelmente estará aumentada em indivíduos mais jovens. Esta pode ser uma possível explicação para os altos níveis de bilirrubina em filhotes neste trabalho, e que também foi observado em juvenis de lontra (Lewis *et al.*, *op. cit.*). A baixa concentração de ferro em juvenis e adultos fêmeas de

peixe-boi provavelmente ocorre por influência dos estrógenos, que influenciam na atividade da eritropoetina, hormônio que regula a taxa de eritropoese, acarretando uma diminuição das hemácias no sangue (Keer, 2003). Não foi encontrado nenhum fator que explicasse a razão do baixo nível de globulina sérica em fêmeas juvenis.

Com o envelhecimento do organismo, o ritmo de atividades decresce e as células começam a trabalhar mais lentamente (Keer, *op. cit.*; Nelson & Cox, 2005; Schalm *et al.*, 1975). Isto pode explicar a diminuição em indivíduos adultos dos níveis de proteínas, minerais e enzimas do sistema circulatório que são responsáveis pelo transporte dos principais compostos essenciais para as reações celulares.

4.2 Influência do sexo nos parâmetros bioquímicos

A maior concentração de ALP, enzima importante na formação dos ossos, no sangue de machos juvenis em relação às fêmeas juvenis foi semelhante ao encontrado para o peixe-boi das Antilhas (*T. manatus manatus*) (Silva *et al.*, 2007) e para o boto-vermelho (Mello, 2006). Mello (*op. cit.*) atribui este fato a um período de desenvolvimento osteoclástico mais longo em machos de boto-vermelho, e o mesmo poderia estar ocorrendo com os peixes-bois. No entanto, mais estudos necessitam ser realizados para verificar esta hipótese. Supondo-se que os machos possuam, de fato, um maior desenvolvimento osteoclástico, sua atividade metabólica seria maior e a concentração de hemoglobina corpuscular média para transporte de oxigênio também será maior. Isso poderia explicar as maiores concentrações de bilirrubina direta e bilirrubina total no sangue, como foi observado nos filhotes e juvenis machos analisados neste trabalho, assim como em lontras (Lewis *et al.*, 1998) e no peixe-boi das Antilhas (Silva *et al.*, *op. cit.*).

Apesar de não ser observada diferença estatisticamente significativa, os níveis de ferro sérico apresentaram uma grande diminuição em fêmeas juvenis e adultas. A absorção de ferro para o sangue circulante é regulado pela taxa de eritropoese, que por sua vez é controlada pelo hormônio eritropoetina. A eritropoetina diminui por influência de estrógenos, que estão aumentados em fêmeas juvenis e adultas devido à sua

maturação sexual (Keer, 2003). Mais estudos necessitam ser feitos para reforçar esta hipótese.

Não é conhecida a influência do sexo na concentração da enzima ALT para explicar seus níveis mais altos em amostras séricas de fêmeas juvenis. Trabalhos realizados com outros mamíferos aquáticos não constataram influência do sexo e dos hormônios sexuais nos parâmetros bioquímicos séricos (Colares *et al.*, 1992; Lewis *et al.*, 1998; Morgan *et al.*, 1998; Colares *et al.*, 2000; Tociłowski *et al.*, 2000; Harvey *et al.*, 2009).

4.3 Fêmeas lactantes e variações bioquímicas

Durante a lactação, há uma grande demanda de compostos lipídicos para a produção do leite. Tendo em vista que o leite de peixe-boi é constituído por cerca de 20% de gordura (Pervaiz & Brew, 1986; Bachman & Irvine, 1978), o organismo da fêmea lactante fornece boa parte dos lipídeos adquiridos em sua alimentação para a produção de leite. Está é uma provável explicação para a redução dos níveis de lipídeos totais, incluindo colesterol e triglicerídeos, no plasma sanguíneo dessas fêmeas. A demanda energética para a lactação é muito grande e pode ocorrer uma rápida assimilação destes compostos lipídicos, resultando em um tempo relativamente curto da presença deles no sangue circulante de fêmeas lactantes.

A bilirrubina é um metabólito encontrado no sangue resultante da degradação de moléculas de hemoglobina (Keer, *op. cit.*), e com a maior necessidade de oxigênio para a atividade de produção do leite, maior serão as concentrações deste metabólito no sangue. Isto possivelmente pode explicar os altos níveis de bilirrubina indireta e total em fêmeas no período de lactação encontrados neste trabalho.

4.4 Dieta láctea e parâmetros bioquímicos

O baixo nível sérico de ferro nos filhotes machos amamentados com fórmula láctea artificial pode ter sido ocasionado por uma leve deficiência na absorção do ferro. Bachman & Irvine (*op. cit.*) fazem uma descrição dos minerais que participam da

composição do leite do peixe-boi da Flórida e comparam sua concentração com os mesmos minerais do leite de bovinos. Os autores constataram que o leite do peixe-boi da Flórida possui uma concentração de ferro quarenta vezes maior que a encontrada no leite de bovinos. Considerando que as duas fórmulas lácteas artificiais administradas aos filhotes de *T. inunguis* eram compostas por leite de vaca, esta pode ter sido a causa da diminuição sérica do ferro nestes animais. Como foi acrescentado complexo polivitamínico na fórmula láctea, é provável que a forma do íon ferro deste complexo polivitamínico não seja igual à forma do ferro encontrada no leite materno da espécie. No entanto, também é possível que o ferro contido no complexo polivitamínico esteja em quantidades insuficientes para suprir a demanda dos filhotes.

O teor de lipídeos das fórmulas lácteas artificiais oferecidas aos filhotes de peixe-boi é 4 a 5 vezes menor do que àquele do leite natural do peixe-boi da Flórida, que possui teor de gordura semelhante ao leite do peixe-boi da Amazônia (Ribeiro *et al.*, 1991). A fonte lipídica adicionada à fórmula láctea artificial, óleo de canola, é de origem vegetal e apresenta uma maior concentração de ácidos graxos poliinsaturados. Já a manteiga, de origem animal, provavelmente apresenta uma composição lipídica diferente da encontrada no leite de *T. inunguis*. Assim, estas fontes lipídicas não são absorvidas pelo organismo de *T. inunguis* com a mesma eficácia de absorção da gordura do leite materno (Nelson & Cox, 2005). Desta forma, os baixos níveis de colesterol e triglicérides em filhotes machos amamentados artificialmente podem ter sido resultantes da baixa assimilação da gordura utilizada na fórmula láctea artificial. Os baixos níveis de bilirrubina total e indireta dos filhotes machos amamentados com fórmula láctea artificial podem ter sido causados por uma menor atividade de degradação de lipídeos quando comparados com os animais que foram alimentados com leite materno, contendo a gordura natural da espécie.

A proteína α -lactoalbumina é uma proteína precursora da lactose (Nelson & Cox, *op. cit.*) e possui uma atividade 10 vezes menor no leite de peixe-boi quando comparada ao leite de vaca (Pervaiz & Brew, 1986). Desta forma, a quantidade de lactose ingerida do leite materno da espécie pelos filhotes será menor que àquela ingerida pelos filhotes alimentados com fórmula láctea artificial. Considerando que a enzima gama-glutamil transferase está envolvida na síntese protéica e peptídica, e

transporte de aminoácidos entre membranas (Keer, 2003), o aumento da sua atividade enzimática em filhotes machos amamentados artificialmente pode ter sido ocasionado por uma maior ingestão de proteínas da fórmula láctea. Essa maior ingestão de proteínas, além da necessidade do organismo, por filhotes machos amamentados artificialmente pode ter causado o aumento do nível de uréia no sangue destes animais, considerando que a uréia é um metabólito resultante da deaminação de proteínas (Keer, *op. cit.*).

Um número alto de peixes-bois foi acompanhado neste estudo ao longo de um extenso período, de 16 anos. A maioria destes animais foram acompanhados frequentemente, fornecendo uma análise sérica temporal de seu sangue. Considerando estes fatores, acredita-se que os valores bioquímicos aqui apresentados refletem de forma segura os valores normais séricos do sangue do peixe-boi da Amazônia. Esses valores servirão de base para diagnósticos de eventuais patologias e para o monitoramento da saúde de indivíduos desta espécie. Deve ser considerado que alguns parâmetros diferem quanto ao sexo, classe etária ou estado fisiológico.

5. Referências Bibliográficas

- Almosny, N. R. P. & Monteiro, A.O. 2006. Patologia clínica. In: Cubas, Z. S.; Silva, J.C.R.; Catão-Dias, J.L. Tratado de animais selvagens – Medicina veterinária: Editora Roca, São Paulo, SP: 939-966.
- Aroch, I.; King, R. & Baneth, G. 2007. Hematology and serum biochemistry values of trapped, healthy, free-ranging rock hyraxes (*Procavia capensis*) and their association with age, sex, and gestational status. *Veterinary Clinical Pathology*, 36(1):40-48.
- 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 Bottlenose Dolphins. In: Leatherwood, S.; Reeves, R.R. (Eds). *The bottlenose dolphin*. Vol.1. Academic Press, San Diego, CA. p. 479-485.
- Bacila, M. 1980. *Bioquímica Veterinária*. Editora J.M. Varela Livros Ltda., São Paulo, SP. 534pp.
- Bachman, K.C. & Irvine, A.B. 1978. Composition of the milk the Florida manatee, *Trichechus manatus latirostris*. *Comparative Biochemistry and Physiology A*, 62: 873-878.
- Bossart, G.D. & Dierauf, L.A. 2001. Clinical pathology. In: Dierauf, L.A. (Ed). *Handbook of Marine Mammal Medicine*. CRC Press, Boca Raton, Florida, EUA. p. 383-436.
- Colares, E.P.; Gonçalves-Colares, I. & Amaral, A.D. 1992. Blood parameters of the Amazonian manatee (*Trichechus inunguis*), Dietary variation. *Comparative Biochemistry Physiology A*, 103(2): 413-415.
- Colares, E.P.; Colares, I.G.; Bianchini, A. & Santos, E.A. 2000. Seasonal variations in blood parameters of the Amazonian manatee, *Trichechus inunguis*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 43(2): 165-171.
- Conn, E.E. & Stumpf, P.K. 1975. *Introdução à bioquímica*. Editora Edgard Blucher Ltda., São Paulo, SP. 447pp.
- Devlin, T.M. 2007. *Manual de bioquímica*. Editora Edgard Blucher Ltda., São Paulo, SP. 1186pp.
- Garcia-Navarro, C.E.K. & Pachaly, J.R. 1994. *Manual de hematologia veterinária*. Livraria Varela, São Paulo, SP. 169 pp.
- Hall, A.J.; Wells, R.S.; Sweeney, J.C.; Townsend, F.I.; Balmer, B.C.; Hohn, A.A. & Rhinehart, H.L. 2007. Annual, seasonal and individual variation in hematology

and clinical blood chemistry profiles in bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) from Sarasota Bay, Florida. *Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology*, 148(2): 266-277.

- Harvey, J.W.; Harr, K.E.; Murphy, D.; Walsh, M.T.; Nolan, E.C.; Bonde, R.K.; Pate, M.G.; Deutsch, C.J.; Edwards, H.H. & Clapp, W.L. 2009. Hematology of healthy Florida manatees (*Trichechus manatus*). *Veterinary Clinical Pathology*, 75(2): 63-82.
- Hendrix, C.M. 2006. *Procedimentos laboratoriais para técnicos veterinários*. Editora Roca Ltda, São Paulo, SP. 556pp.
- Keer, M.G., 2003. *Exames Laboratoriais em Medicina Veterinária. Bioquímica Clínica e Hematologia*. Editora Roca, São Paulo, SP. 436 pp.
- Koopman, H.N.; Westgate, A.J.; Read, A.J. & Gaskin, D.E. 1995. Blood chemistry of wild harbor porpoise, *Phocoena phocoena*. *Marine Mammal Science*, 11(2): 123-135.
- Larner, J. 1974. *Metabolismo intermediário e sua regulação. Fundamentos de bioquímica moderna*. Editora Edgard Blucher Ltda., São Paulo, SP. 251 pp.
- Lewis, J.C.M.; Pagan, L.; Hart, M. & Green, R. 1998. Normal haematological and serum biochemical values of Eurasian otters (*Lutra lutra*) from a Scottish rehabilitation centre. *The Veterinary Record*, 143(25): 676-679.
- Manire, C.A.; Walsh, C.J.; Rhinehart, H.L.; Colbert, D.E.; Noyes, D.R. & Luer, C.A. 2003. Alterations in blood and urine parameters in two Florida manatees (*Trichechus manatus latirostris*) from simulated conditions of release following rehabilitation. *Zoo Biology* 22(2): 103-120.
- Mello, D.M.D. 2006. *Hematologia e bioquímica sanguínea do boto vermelho (Inia geoffrensis) (de Blainville, 1817)*. Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazonia/Fundação Universidade do Amazonas, Manaus, AM. 116 pp.
- Morgan, L.; Kumaresan, S.; Thomas, C. & MacWilliams, P. 1998. Hematology and chemistry reference values for free-ranging harbor seals (*Phoca vitulina*) and the effects of hemolysis on chemistry values of captive harbor seals. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 29(4): 394-400.
- Nelson, D.L. & Cox, M.M. 2005. *Principles of Biochemistry*. Editora W.H. Freeman and Company, New York, NY. 1120 pp.

- Pervaiz, S. & Brew, K. 1986. Composition of the milks of the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) and the Florida manatee (*Trichechus manatus latirostris*). *Comparative Biochemistry Physiology A*, 84(2): 357-360.
- Ribeiro, E.L.A.R.; Restle, J. & Pires, C.C. 1991. Produção e composição do leite em vacas charolês e aberdeen angus amamentando terneiros puros ou mestiços. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 26 (8): 1267-1273.
- 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*. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da Unipar, Umuarama*, 2(1): 37-42.
- Schalm, O.W.; Jain, N.C. & Carroll, E.J. 1975. *Veterinary Hematology*. Editora: University of California, Berkeley, CA, USA. 807pp.
- Silva, F.M.O., Vergara-Parente, J.E., Gomes, J.K.N., Teixeira, M.N. & Lima, R.P. 2007. A contribution for the definition of serum chemistry values in captive adult Antillean manatees (*Trichechus manatus manatus*, Linnaeus, 1758). *Journal of Veterinary Medicine A*, 54(3): 119-122.
- St. Aubin, D.J.; Deguise, S.; Richard, P.R.; Smith, T.G. & Gerai, J.R. 2001. Hematology and plasma chemistry as indicators of health and ecological status in beluga whales, *Delphinapterus leucas*. *Arctic*, 54(3): 317-331.
- Stevens, A. & Lowe, J.S. 2001. *Histologia Humana*. Editora Manole, São Paulo, SP. 408pp.
- Tocidlowski, M.E.; Spelman, L.H.; Sumner, P.W. & Stoskopf, M.K. 2000. Hematology and serum biochemistry parameters of North American river otters (*Lontra canadensis*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 31(4): 484-490.

Considerações Finais

Os parâmetros sanguíneos são bons indicadores do estado de saúde dos indivíduos, e através de sua análise podem ser detectadas diversas patologias. Estes parâmetros também sofrem variações fisiológicas devido a fatores ambientais, fatores hormonais, como no caso da maturação sexual, agentes estressores, desenvolvimento do organismo durante seu crescimento e carências nutricionais. O estudo dos parâmetros hematológicos e bioquímicos é essencial para o manejo e reabilitação de animais em cativeiro. Neste trabalho, foram realizadas análises apenas de peixes-bois considerados saudáveis. Muitos desses animais tiveram um grande número de amostras sanguíneas coletadas e em diferentes fases de seu desenvolvimento. No período de dezesseis anos foram coletadas centenas de amostras de sangue de animais em diferentes faixas etárias e sexo. A análise dessas amostras proporcionou um trabalho com uma riqueza de detalhes das variações dos parâmetros sanguíneos ao longo da vida desses animais, devido ao crescimento e da diferença entre os sexos. Desta forma, os dados obtidos neste trabalho apresentam robustez e poderão ser utilizados como valores-referência para o peixe-boi da Amazônia. Estes resultados permitirão estudos ainda mais aprofundados do comportamento dos parâmetros sanguíneos em diversas patologias, e da influência causada por diversos fatores ambientais. Foi atingido o objetivo de contribuir para a conservação do peixe-boi da Amazônia, fornecendo uma ferramenta para o manejo da espécie em cativeiro e um maior entendimento do comportamento fisiológico de seu organismo.

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](#)