

RAFAEL CARTELLI

CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS  
SANGUÍNEOS DE ALPACAS (*Lama pacos*) e GUANACOS (*Lama guanicoe*)  
DA FAUNA DE CAMELÍDEOS SULAMERICANOS.

Tese apresentada ao Curso de Pós-  
Graduação em Ciências Veterinárias da  
Universidade Federal do Paraná para a  
obtenção do título de Mestre em Ciências  
Veterinárias.

CURITIBA

2000

CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS SANGUÍNEOS  
DE ALPACAS (*Lama pacos*) E GUANACOS (*Lama guanicoe*) DA FAUNA DE  
CAMELÍDEOS SULAMERICANOS.

Por

Rafael Cartelli

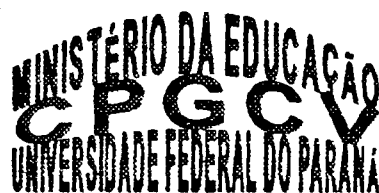
Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Paraná para a obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.

Orientador: Prof. Dr. Metry Bacila

Co-Orientador: Prof. Dr. Rubens Rosa

CURITIBA – PARANÁ – BRASIL

2000



## PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa de Tese do Candidato ao Título de Mestre em Ciências Veterinárias, Área Produção Animal RAFAEL CARTELLI após a realização desse evento, exarou o seguinte Parecer:

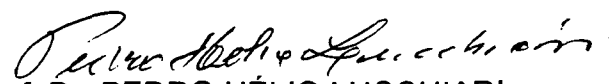
1) A Tese, intitulada “**CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS SANGUÍNEOS DE ALPACAS (*Lama pacus*) E GUANACUS (*Lama guanicoe*) DA FAUNA DE CAMELÍDEOS SULAMERICANOS**” foi considerada, por todos os Examinadores, como um louvável trabalho, encerrando resultados que representam importante progresso na área de sua pertinência.

2) O Candidato se houve muito bem durante a Defesa de Tese, respondendo a todas as questões que foram colocadas.

Assim, a Comissão Examinadora, ante os méritos demonstrados pelo Candidato, atribuiu o conceito “ A ” concluindo que faz jus ao Título de Mestre em Ciências Veterinárias, Área de Patologia Animal.

Curitiba, 19 de junho de 2000.

  
Prof. Dr. METRY BACILA  
Presidente/Orientador

  
Prof. Dr. PEDRO HÉLIO LUCCHIARI  
Membro

  
Prof. Dr. JOSÉ LUCIANO ANDRIGUETTO  
Membro

À memória do Professor Rubens Rosa,  
brilhante pesquisador e querido amigo.

Agradeço a todos que direta ou indiretamente colaboraram para a realização do presente trabalho, principalmente;

Aos meus orientadores, Prof. Dr. Metry Bacila e Prof. Dr. Rubens Rosa;

À Professora Dra. Clotilde Germiniani, pelo apoio e amizade imensuráveis;

Ao Zoológico de Curitiba, representado pelo seu diretor, Luiz Roberto e ao Médico

Veterinário Rogério Lange, por disponibilizar animais e pessoal para esta pesquisa;

Ao Prof. Dr. José Ricardo Pachaly pelos anos de convivência;

Ao Prof. Dr. Pedro R. Werner;

Ao Prof. Fabiano Montiani e Larissa;

À Prof. Dra. Juliana Maurer Menestrina;

Aos meus pais;

Aos meus amigos Jorge e Luciano;

À Andréia, pelo seu companheirismo e amizade;

À todos do Hospital Veterinário;

À Pontifícia Universidade Católica do Paraná, por me acolher em suas instalações;

À Sandrinha, por dar um sentido à minha vida e me direcionar ao que realmente importa.



III.	RESULTADOS .....	18
3.1.	Hemograma .....	18
3.1.1.	Guanacos ( <i>Lama guanicoe</i> ) .....	18
3.1.2.	Alpacas ( <i>Lama pacos</i> ) .....	20
3.2.	Bioquímica .....	22
3.2.1.	Glicemia plasmática .....	22
3.2.2.	Desidrogenase do lactato (LDH) .....	22
3.2.3.	Aspartato Amino-Transferase (AST) ou Transaminase glutâmico oxalacética (GOT) .....	24
3.2.4.	Uréia .....	24
3.3.	Fluxo glicolítico .....	27
3.3.1.	Guanacos .....	27
3.3.2.	Alpacas .....	29
IV.	DISCUSSÃO .....	31
V.	CONCLUSÕES .....	38
VI.	ANEXOS .....	39
8.1.	Via glicolítica de Embden-Meyerhof-Parnas .....	39
VII.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	40

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Sistema para a determinação de LDH sérica. ....	10
Tabela 2.	Valores hematológicos da série vermelha e da série branca de guanacos ( <i>Lama guanicoe</i> ). ....	19
Tabela 3.	Valores comparativos entre dados de hemograma encontrados por diversos autores e neste estudo para guanacos ( <i>Lama guanicoe</i> ).....	20
Tabela 4.	Hemograma de alpacas ( <i>Lama pacos</i> ) em estudo, comparados à JAIN (1991). ....	22
Tabela 5.	Taxas para a glicose plasmática de guanacos ( <i>Lama guanicoe</i> ), alpacas ( <i>Lama pacos</i> ) e camelos ( <i>Camelus bactrianus</i> ). ....	22
Tabela 6.	Valores séricos para a desidrogenase do lactato para guanacos ( <i>Lama guanicoe</i> ) e alpacas ( <i>Lama pacos</i> ), expressos em Unidades por litro (U/l). ....	24
Tabela 7.	Valores de AST/GOT para guanacos ( <i>Lama guanicoe</i> ) e alpacas ( <i>Lama pacos</i> ), expressos em Unidades por litro (U/l). ....	24
Tabela 8.	Valores para uréia sérica de guanacos ( <i>Lama guanicoe</i> ) e alpacas ( <i>Lama pacos</i> ), expressos em mg/dl. ....	27
Tabela 9.	Valores para o fluxo glicolítico em eritrócitos de guanaco macho incubados com glicose. ....	27
Tabela 10.	Valores para fluxo glicolítico em eritrócitos de guanaco fêmea incubados com glicose. ....	28
Tabela 11.	Valores para o fluxo glicolítico em eritrócitos de alpaca macho incubados com glicose. ....	28
Tabela 12.	Valores para fluxo glicolítico em eritrócitos de alpaca fêmea incubados com glicose. ....	29
Tabela 13.	Valores relativos ao fluxo glicolítico de animais domésticos e do homem, obtidos aos 150 minutos de incubação, a 630 nm, pela reação da o-toluidina.....	34
Tabela 14.	Valores para a uréia sanguínea de animais domésticos e de camelídeos.....	36

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Classificação e espécies de mamíferos ungulados. ....	02
Figura 2.	Fluxograma para a obtenção de suspensões padronizadas de eritrócitos.....	11
Figura 3.	Etapas enzimáticas de determinação das taxas sanguíneas da Aspartato Amino-Transferase. ....	13
Figura 4.	Etapas enzimáticas de determinação das taxas sanguíneas de uréia. ....	14
Figura 5.	Mecanismo de reação da orto-toluidina com glicose. ....	16
Figura 6.	Comparação entre valores de hemoglobina (g/dl) de diversos animais da ordem <i>Artyodactyla</i> . ....	21
Figura 7.	Gráfico comparativo entre os valores calculados para a glicose plasmática (GLU), para guanacos ( <i>Lama guanicoe</i> ) e alpacas ( <i>Lama pacos</i> ) em estudo, e para camelos ( <i>Camelus bactrianus</i> ) expressos em mg/dl. ....	23
Figura 8.	Gráfico comparativo entre os valores calculados para níveis séricos da desidrogenase do lactato (LDH), para guanacos ( <i>Lama guanicoe</i> ) e alpacas ( <i>Lama pacos</i> ) em estudo, expressos em U/l. Cada Unidade corresponde a 1 $\mu\text{Mol de NADH} + \text{H}^+ \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{l}^{-1}$ de soro nas condições do teste. ....	25
Figura 9.	Valores da absorbância (ABS) de AST/GOT obtidos para as leituras em 0, 1, 2, 3, 4 e 5 minutos, em espectrofotômetro a 340 nm, para guanacos ( <i>Lama guanicoe</i> ) e alpacas ( <i>Lama pacos</i> ) em estudo. ....	26
Figura 10.	Valores calculados para uréia sérica, para guanacos ( <i>Lama guanicoe</i> ) e alpacas ( <i>Lama pacos</i> ) em estudo, expressos em mg/dl. ....	28
Figura 11.	Diagrama da relação da veia jugular com as demais estruturas presentes no pescoço de camelídeos sul-americanos. ....	31
Figura 12.	Diagrama demonstrando os padrões eletroforéticos de soro de camelo ( <i>Camelus dromedarius</i> ). ....	37

## RESUMO

O principal objetivo do presente trabalho é o de estudar algumas características dos eritrócitos, particularmente o fluxo glicolítico, de camelídeos sulamericanos, a alpaca, *Lama pacos*, e o guanaco, *Lama guanicoe*. Uma revisão de literatura revelou que a informação científica sobre esse assunto é muito escassa. Estudos foram levados a efeito, sobre o hemograma, o conteúdo de enzimas séricas, aspartato aminotransferase e desidrogenase do lactato, e de uréia sérica e glicose plasmática no sangue de um casal de alpacas e de um casal de guanacos. Valores do fluxo glicolítico foram estabelecidos com eritrócitos obtidos de cada um desses animais. Além de outros resultados, é importante mencionar os dados obtidos com relação ao conteúdo de uréia sérica desses animais, valores esses em torno de 3,0 mg/dl, aparentemente uma característica da Família Camelidae.

## ABSTRACT

The main objective of the present work is the study of some characteristics of the red blood cells, particularly the glycolytic flux, from the South American Camellidae alpaca; *Lama pacos* and guanaco, *Lama guanicoe*. A revision of the literature showed that the scientific information on this issue is very scarce. Studies were carried out on the hemogram, the content of serum enzymes, aspartate amino-transferase and latic dehydrogenase, and of serum urea and plasma glucose in the blood of two alpacas, male and female, and two guanacos, male and female. Determination of the glycolytic flux were carried out with the red blood cells of all four animals. Besides other results, its worthwhile to mention the finding of serum urea values as low as 3.0 mg/dL, apparently a characteristic of the Camellidae Family.

## I. INTRODUÇÃO

O objetivo do presente estudo foi o de investigar algumas características do sangue de camelídeos. Assim, decidiu-se estudar o fluxo glicolítico eritrocitário de tais animais, aproveitando o material obtido também para outros estudos, de maneira a completar o presente trabalho e contribuir com mais dados sobre esses animais.

A família Camelidae compreende o camelo (*Camelus bactrianus*), o dromedário (*Camelus dromedarius*), a alpaca (*Lama pacos*), a lhama (*Lama glama*), o guanaco (*Lama guanicoe*) e a vicunha (*Vicugna vicugna*), sendo que existem duas sub-espécies desta última, *V. vicugna mensalis* (Peru) e *V. vicugna vicugna* (Argentina). O camelo e o dromedário ocorrem na Ásia e na África e alguns autores os chamam de “camelídeos do velho mundo”. As demais espécies são sul-americanas, sendo que a vicunha está em risco de extinção. CARPIO *et al* (1991) estima que sua população mundial está reduzida a aproximadamente 150 000 indivíduos. Todas as espécies são exóticas ao Brasil.

As espécies sul-americanas iniciaram sua história evolucionária na região oeste da América do Norte, mas migraram para a América do Sul há aproximadamente três milhões de anos atrás. A lhama e a alpaca foram domesticadas há aproximadamente 7000 anos, proporcionando aos indígenas lã, carne, couro e tração animal.

Os camelídeos pertencem à classe *Mammalia*, ordem *Artiodactyla*. Esta ordem é subdividida nas sub-ordens *Suiformes* (hipopótamos, porcos, queixadas), *Tylopoda* (camelídeos) e *Ruminantia* (bovinos, ovinos, caprinos, búfalos, girafas, cervos, antílopes, bisões). Essa classificação está representada na Figura 1.

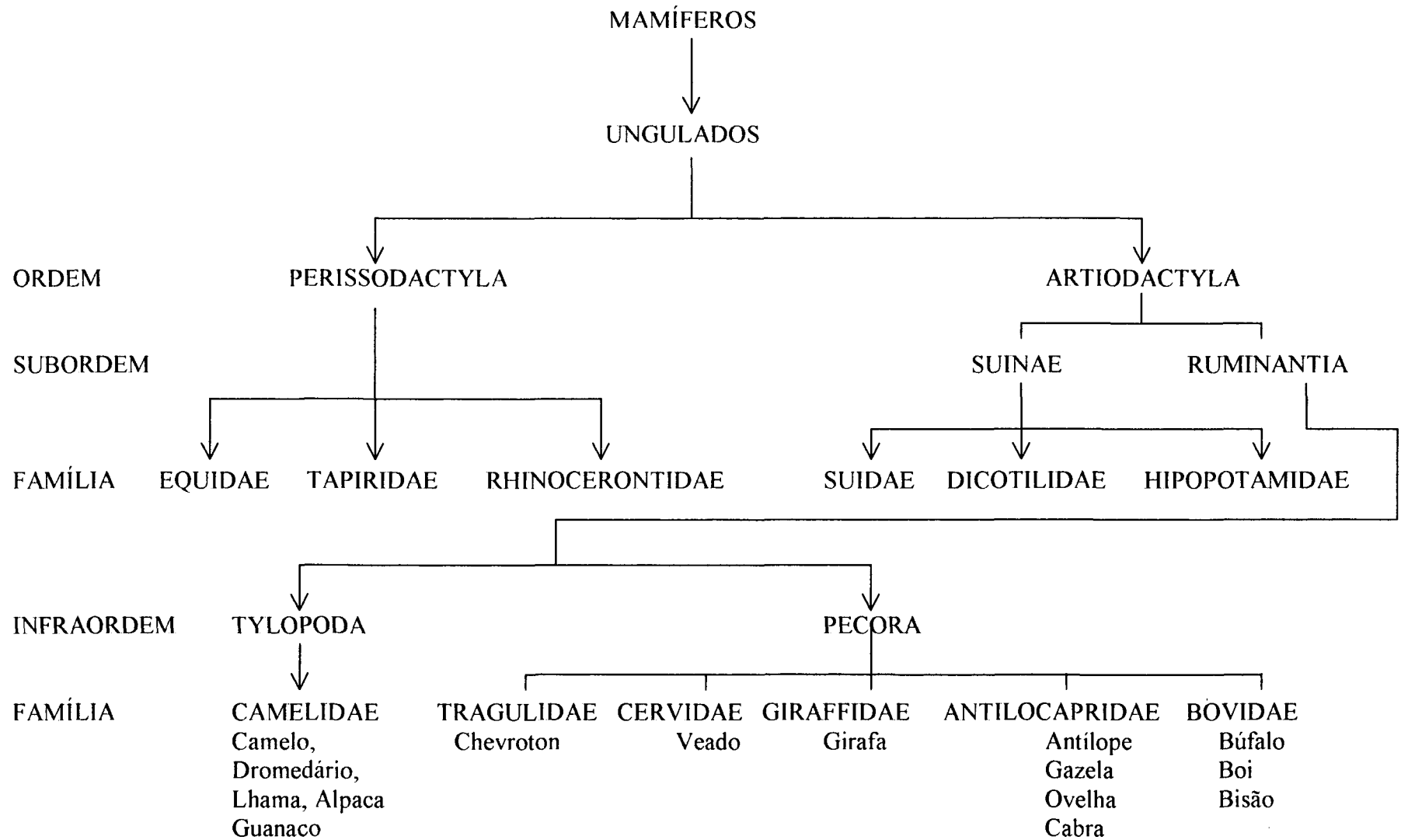


Figura 1. Classificação e espécies de mamíferos ungulados.

Os camelídeos possuem 37 pares de cromossomos. Os camelídeos sul-americanos produzem híbridos férteis. Destes cruzamentos, FOWLER (1995) pode observar diversos defeitos genéticos como hipoplasia cerebelar, ciclopia, agenesia do palato, hipoplasia e agenesia de ovário, polidactilia e úraco persistente, entre outros. Os camelídeos possuem, entre outras particularidades citadas no decorrer deste trabalho, eritrócitos com características especiais, o que os fazem um excepcional objeto de estudo.

Fazendo um levantamento de literatura existente a esse respeito, depara-se com dados incompletos e, segundo conclusão que pôde ser obtida por este trabalho, devido à enorme capacidade de adaptação desse grupo de animais, os valores encontrados por diferentes autores em diferentes regiões do mundo não possuem congruência.

Entretanto, verificou-se pelo levantamento bibliográfico levado a efeito a falta de dados sobre valores hematológicos e principalmente de dados de bioquímica sangüínea sobre camelídeos, sendo ainda que há menor quantidade de dados disponíveis relativos aos camelídeos sul-americanos.

Assim, com o apoio do Zoológico de Curitiba, escolhemos representantes desses animais para nossos estudos. Devido a sua maior facilidade de manipulação, bem como disponibilidade, optou-se por estudar amostras de sangue de guanacos e alpacas, animais menos estudados entre os Camelídeos. A literatura revela maior concentração de estudos no camelo, no dromedário e na lhama.

O eritrócito dos camelídeos possui formato elíptico, em comparação aos demais mamíferos, que os possuem esféricos e bicôncavos. No passado, acreditava-se que os camelídeos possuíam eritrócitos nucleados, mas com trabalhos realizados em microscopia eletrônica, como os de JAIN & KEETON (1974), tal característica pôde ser elucidada. A alta

concentração de hemoglobina globular média (CHGM) encontrada nos eritrócitos desses animais é característica da espécie (JAIN, 1991). Como no homem, os camelídeos possuem reserva de eritrócitos no baço, o que pode ser observado através de pequenos aumentos nas taxas de hemoglobina e hematócrito após exercício (SNOW et al., 1988).

Dentre os mamíferos, os eritrócitos dos camelídeos são os mais resistentes à hemólise em solução salina hipotônica, como resultado da sua grande capacidade em ligar-se à água. Segundo PERK (1963), o eritrócito do sangue dos camelos pode aumentar em 196 por cento de seu volume, sem hemolisar, comparada aos demais animais, que abaixo de 150 por cento rompem sua membrana.

O dromedário tem condições de resistir a uma desidratação extrema, perdendo água corpórea equivalente a 40 por cento de seu peso total. Para fins de comparação, um ser humano ficaria próximo da morte se perdesse o equivalente a 12 por cento do seu peso, em água (GAUTHIER-PILERS, H., 1981).

Essa propriedade, única dos camelídeos, pode ser relacionada ao citoesqueleto do eritrócito que contém uma alta proporção de lipoproteínas. MARCHESI (1985) efetuou pesquisas sobre a membrana eritrocitária, encontrando várias proteínas, correspondendo às faixas 1; 2; 3; 4,1; 4,2; 5 e 6 que aparecem em eletroforese de gel de poliacrilamida em preparações tratadas com sódio dodecil sulfato (SDS). Há a presença de mais quatro faixas de proteínas que reagem com o reagente de ácido periódico-Schiff (PAS), as glicoforinas, glicoproteínas transmembrana, ricas em carboidratos. Os camelídeos revelam, na eletroforese da membrana de seus eritrócitos, pouca anquirina (banda 2.1); contém a pré-banda 1 com proteínas de alto peso molecular, possuem taxa de espectrina em 0,7 quando comparada a 1,3 de eritrócitos humanos (HAWKEY et al, 1988; OMORPHOS et al, 1989). Os eritrócitos dos

camelos são relativamente não deformáveis. As concentrações eritrocitárias de selênio presentes possuem significativa correlação com a atividade da glutátion-peroxidase.

Outra importante particularidade dos eritrócitos dos camelídeos é a sua capacidade de ligação com o oxigênio, 50 por cento maior do que dos demais mamíferos (BARTELS et al, 1963), devido à sua alta concentração de hemoglobina eritrocitária, a qual será discutida mais adiante.

Estudos referentes ao fluxo glicolítico em eritrócitos de animais domésticos e do homem revelaram que apenas ocorre consumo de glicose pelo eritrócito humano. Assim, o estudo do fluxo glicolítico em eritrócitos de camelídeos torna-se importante quando comparado à espécie humana. Em aves, ROSA et al (1983, 1989), conduziu estudos relativos ao metabolismo eritrocitário. Foi observado que a glicose está praticamente toda compartimentalizada no plasma e que o eritrócito é ineficiente em relação ao metabolismo glicêmico, apesar de possuir todo o conjunto de enzimas glicolíticas.

Foram obtidos neste estudo também, valores referentes ao hemograma dos animais estudados. Como dito anteriormente, a enorme capacidade adaptativa da família Camelidae faz com que os dados obtidos tornem-se únicos, visto que através da revisão bibliográfica realizada, os diversos autores consultados não obtiveram hemogramas com valores médios.

Os estudos relativos à bioquímica sérica por nós realizados são praticamente únicos pois a literatura não possui trabalhos específicos nesta área. Foram pesquisados os valores séricos da desidrogenase láctica (LDH), da aspartato aminotransferase (AST) ou transaminase glutâmico oxalacética (GOT) e de uréia.

Assim, o presente trabalho foi realizado com o intuito de fornecer dados e até mesmo inspiração para trabalhos futuros com relação ao metabolismo glicídico e suas relações com os eritrócitos dos camelídeos.

## II. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Material Biológico

#### 2.1.1.. Camelídeos

Foram utilizados um casal de guanacos (*Lama guanicoe*) e um casal de alpacas (*Lama pacos*), com idade adulta, clinicamente saudáveis, pertencentes ao Zoológico de Curitiba.

#### 2.1.2. Colheitas de Sangue

Os animais foram contidos fisicamente e amostras de sangue foram obtidas através da punção da veia femoral. Há uma certa dificuldade em se obter amostras de sangue através da veia jugular, devido a particularidades da anatomia da região cervical destes animais.

O sangue foi colhido através do sistema vacutainer®<sup>1</sup>, em frascos contendo como anticoagulante heparina (para o estudo do fluxo glicolítico) e fluoreto de sódio e oxalato de potássio (para o estudo da glicemia sangüínea) e em frascos sem anticoagulante (para estudos relativos à bioquímica sérica), totalizando um volume de 30 ml.

O material colhido foi imediatamente acondicionado em recipiente com temperatura mantida a 4°C e transportado ao Laboratório de Bioquímica da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, para ser processado conforme as técnicas recomendadas pela Sociedade Brasileira de Hematologia e Hemoterapia (1975).

As colheitas foram realizadas no período da manhã, evitando desta forma que os resultados referentes à glicemia sangüínea fossem alterados pela dieta.

#### 2.1.3. Manuseio das amostras de sangue

As amostras de sangue foram manipuladas conforme a técnica correspondente ao respectivo experimento, descritas a seguir.

---

<sup>1</sup> Becton Dickinson VACUTAINER Systems – Becton Dickinson and Co. Franklin Lakes, NJ 07417-1885, USA.

### 2.1.3.1. Obtenção de valores hematológicos

Para a obtenção dos valores hematológicos dos animais em estudo, utilizaram-se as técnicas descritas a seguir (KANTEK, 1991). A contagem das células sanguíneas foi feita com o auxílio de uma câmara de Neubauer modificada, microscópio óptico e pipeta de Thoma.

Técnica:

- a. Aspirar sangue com a pipeta até a marca 0,5. Utilizar um pequeno tubo de borracha entre a boca e a pipeta;
- b. Completar a pipeta com NaCl 0,85%;
- c. Agitar a pipeta no sentido circular, a fim de permitir a perfeita mistura entre o sangue e o líquido diluidor;
- d. Encher a câmara de Neubauer, desprezando as primeiras gotas, fazendo o líquido penetrar por capilaridade entre a lâmina e a lamínula, em um ângulo de 45°;
- e. Proceder com a contagem dos eritrócitos, inicialmente com a objetiva de 10 vezes, para verificar se os eritrócitos estão bem distribuídos na câmara.

Para a contagem de leucócitos, foi realizado um esfregaço de sangue em lâminas de vidro e após secas, coradas com o corante de Wright e os leucócitos do sangue contados por campo visual, até atingir o número de 100 células (representando 100%).

Para a obtenção do valor do hematócrito, tubos para micro-hematócrito foram preenchidos com sangue em anticoagulante, por capilariedade, e colocados em centrífuga para micro-hematócrito. Após a centrifugação, os valores foram calculados com o auxílio de uma escala padrão para micro-hematócrito.

A partir dos dados obtidos, os valores para volume globular médio (VGM) e concentração de hemoglobina globular média (CHGM) foram obtidos. Este último é o índice médio da percentagem de hemoglobina por hemácia, e dentro do contexto desta tese, é um dado de valor relevante.

### 2.1.3.2. Determinação da taxa glicêmica plasmática

A taxa da glicemia sanguínea foi determinada a partir das amostras colhidas em presença do anticoagulante fluoreto de sódio. Para a determinação da taxa glicêmica do plasma, as amostras foram centrifugadas a 2000 rpm, por 10 minutos, em centrífuga refrigerada e a taxa glicêmica medida no sobrenadante pela técnica da orto-toluidina (NIKKILA & HYVARIWEN, 1962).

### 2.1.3.3. Obtenção de suspensões padronizadas de eritrócitos para o estudo de células intactas

O fluxo glicolítico exigiu a preparação de uma suspensão padronizada de eritrócitos, segundo BACILA et al. (1991). Os detalhes desta preparação são descritos a seguir:

- I. Em tubos de ensaio (18 x 140 mm), contendo 4 ml de solução de NaCl 0,154 M, colocar 10 ml de sangue total com heparina;
- II. Vedar os tubos com Parafilm® e inverter suavemente, por 10 a 15 vezes;
- III. Deixar em repouso na posição vertical;
- IV. Iniciada a separação, remover cautelosamente o sobrenadante (plasma, leucócitos e plaquetas), sendo essa operação feita à temperatura ambiente e com duração de 45 minutos;
- V. Após a remoção do sobrenadante, adicionar 3 volumes de solução fisiológica, agitar suavemente, tomando o cuidado de não ocorrer hemólise e formação de espuma, e centrifugar em centrífuga refrigerada, com a temperatura de 5 °C, a 2000 rpm. Essa operação é realizada nos tempos de 15, 10 e 5 minutos, respectivamente. Após cada lavagem o sobrenadante é aspirado com trompa à vácuo, buscando-se que toda a porção leucocitária seja retirada, mesmo que uma perda de eritrócitos ocorra;
- VI. Após uma última centrifugação e sucessiva aspiração do sobrenadante, o volume de eritrócitos é anotado;
- VII. Para estudos de fluxo glicolítico, uma alíquota de 1 ml de eritrócitos sedimentados é transferido para erlenmeyer de 25 ml com rolha esmerilhada;

VIII. À restante papa eritrocitária são adicionados 3 volumes de solução 0,154 M de NaCl e a suspensão é utilizada para proceder-se à contagem de eritrócitos e de leucócitos, sendo estes últimos toleráveis até valores de 800 células/mm<sup>3</sup>.

A Figura 2 mostra o fluxograma para a obtenção de suspensões padronizadas de eritrócitos.

#### 2.1.3.4. Metodologia para o estudo de bioquímica sérica

Para tais determinações, foram utilizadas as alíquotas de sangue colhidas em frascos sem anticoagulante, para a obtenção do soro sanguíneo. Para estes testes, kits comerciais da marca Labtest® foram usados.

##### 2.1.3.4.1. Desidrogenase láctica (LDH)

O princípio deste método (Tabela 1) é o da mensuração colorimétrica da formação de NADH resultante da reação reversível lactato-piruvato, a qual é catalisada pela desidrogenase láctica na presença de NAD. O teste é montado conforme a tabela abaixo descrita:

Tabela 1. Sistema para a determinação de LDH sérica.

	Controle	Teste	Padrão
Tampão (n° 1)	1,0 ml	---	1,0 ml
Substrato (n° 2)	---	1,0 ml	---
Amostra	0,05 ml	0,05 ml	---
Padrão (n° 3)	---	---	0,05 ml
Observação #1: Colocar em banho maria a 37 °C, por 2 minutos.			
Reagente de cor (n° 4)	0,2 ml	0,2 ml	
Observação #2: Misturar e incubar em banho-maria a 37°C exatamente 5 minutos.			
Estabilizador de uso	4,0 ml	4,0 ml	4,0 ml

Misturar e deixar na temperatura ambiente por 5 minutos. Determinar as absorvâncias do controle, teste e padrão em 500 nm, acertando o zero com água destilada. A cor é estável por 30 minutos.

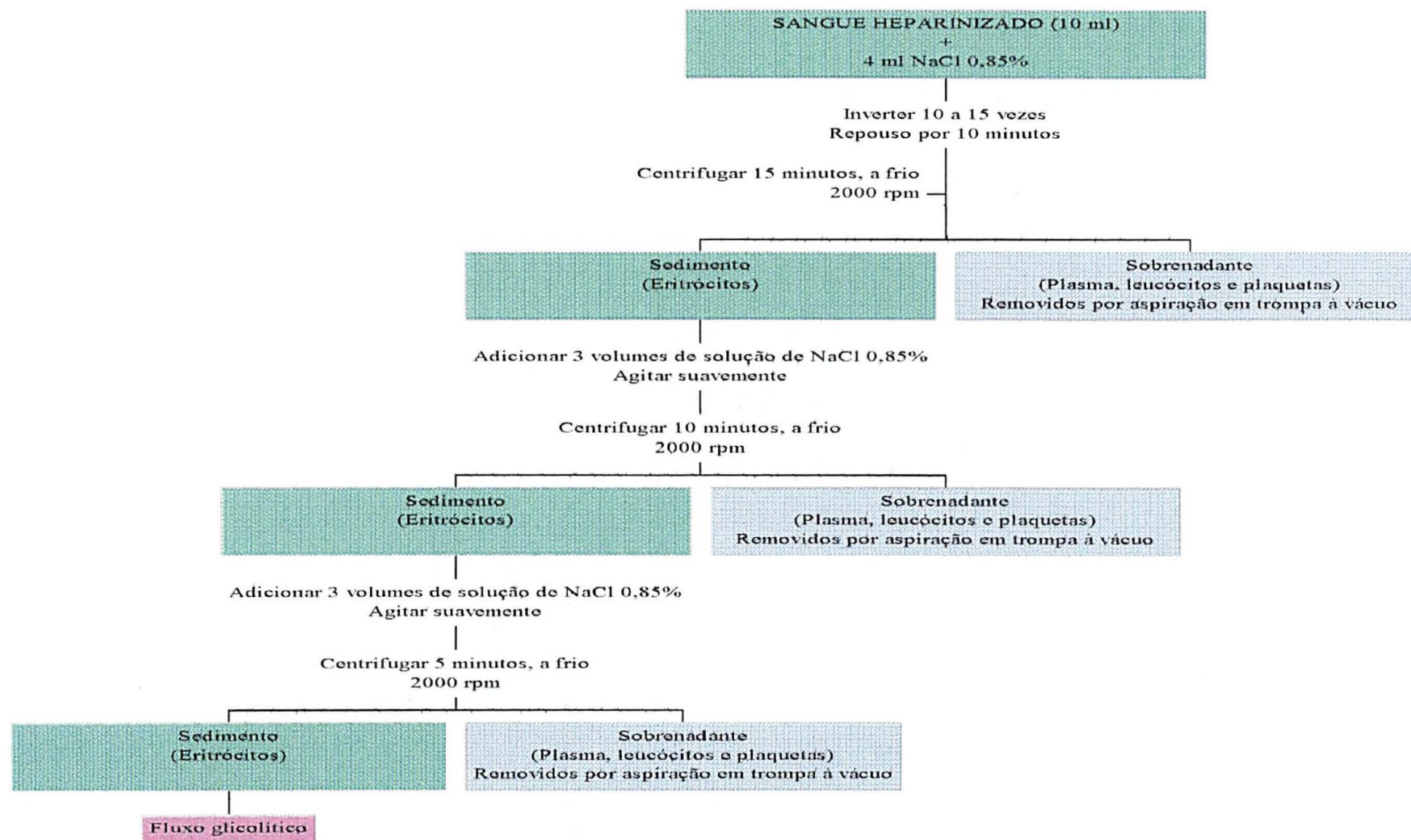


Figura 2: Fluxograma para a obtenção de suspensões padronizadas de eritrócitos.

Para calcular os valores séricos de LDH, em Unidades por litro, utiliza-se a seguinte fórmula:

$$U/I = \frac{\text{Abs. do teste} - \text{Abs. do controle}}{\text{Abs. do padrão}} \times 150$$

#### 2.1.3.4.2. Aspartato Amino-Transferase (AST/GOT)

Este método possui como princípio que a AST catalisa a transferência de grupos amina do aspartato para o alfa-cetoglutarato, com formação de glutamato e oxalacetato. Este é reduzido a malato por ação da malato-desidrogenase, enquanto que a coenzima NADH é oxidada a NAD (FIG. 3).

A conseqüente redução da absorbância em 340 ou 365 nm, monitorizada espectrofotometricamente é diretamente proporcional à atividade da enzima na amostra.

Procedimento:

Adicionar 0,1 ml de amostra a 1,0 ml do reagente de trabalho, misturar e transferir para a cubeta termostatizada a 30°C. Esperar 1 minuto. Fazer a leitura inicial e após 1, 2 e 3 minutos.

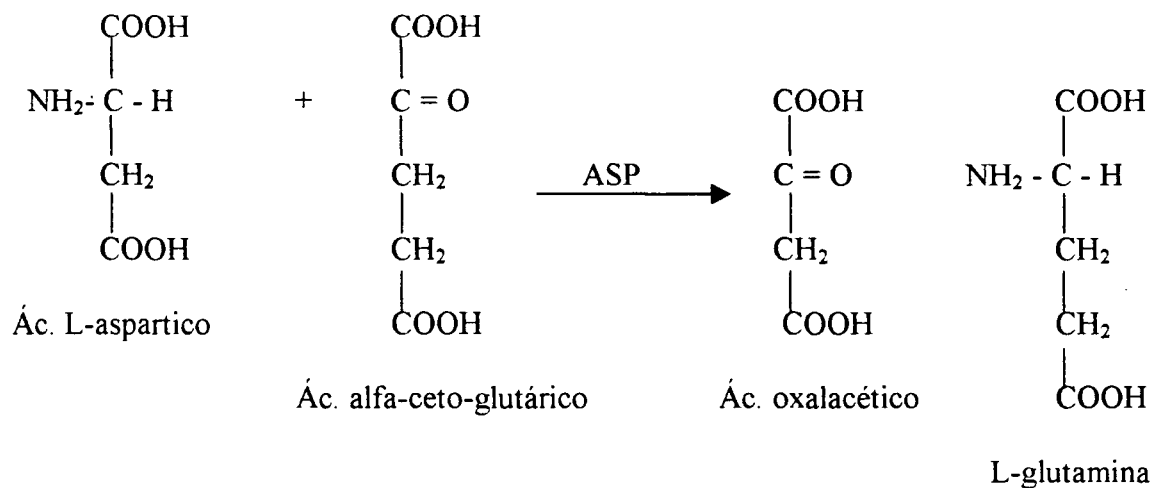
Calcular a média das diferenças de absorbância por minuto ( $\Delta A/\text{minuto}$ ) e utilizar para calcular o resultado.

$$\begin{aligned} \text{Cálculos:} \quad \text{AST/GOT (U/I) - 340 nm: } & (\Delta A/\text{minuto}) \times 1746 \\ \text{AST/GOT (U/I) - 365 nm: } & (\Delta A/\text{minuto}) \times 3333 \end{aligned}$$

#### 2.1.3.4.3. Uréia

O teste têm como fundamento que a uréia é hidrolizada pela urease, gerando amônia e dióxido de carbono. A amônia reage com o alfa-cetoglutarato e NADH em uma reação catalisada pela glutamato desidrogenase (GLDH), ocorrendo oxidação da NADH a NAD. A conseqüente redução da absorbância, medida a 340 nm é proporcional à concentração de uréia na amostra (Figura 4).

(1)



(2)

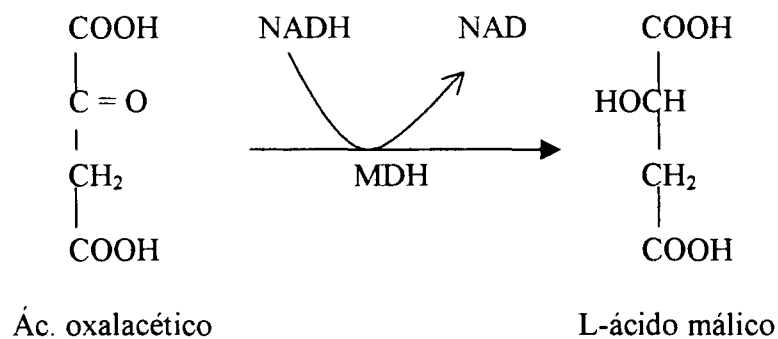
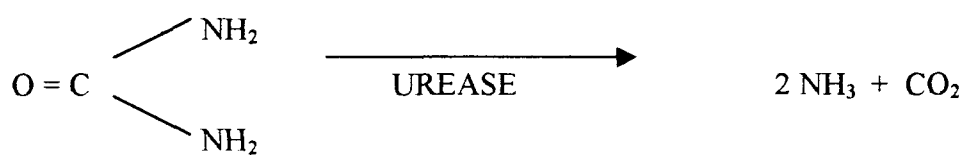


Figura 3: Etapas enzimáticas de determinação das taxas sanguíneas de Aspartato amino-transferase

(1)



(2)

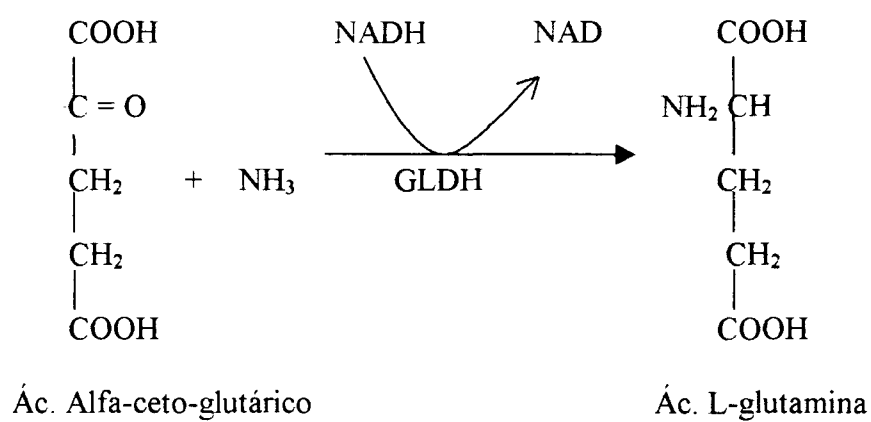


Figura 4: Etapas enzimáticas de determinação das taxas sanguíneas de Uréia.

### 2.1.3.5. Determinação do fluxo glicolítico

#### 2.1.3.5.1. Solução Tampão

NaCl	0,154 M
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,025 M
Glicilglicina	0,05 M
pH final	7,8

Para preparar 100 ml da presente solução, transferir para um bequer 0,850g de NaCl 0,154 M, 357g de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> e 0,66g de glicilglicina. Dissolver com 80 ml de água bidestilada deionizada, ajustar o valor do pH para 7,8 e completar o volume para 100 ml em balão volumétrico aferido.

#### 2.1.3.5.2. Solução de glicose

Esta solução é preparada dissolvendo-se 21,6 mg de glicose em 2 ml de tampão glicilglicina pH 7,8. Esta solução será utilizada para a incubação dos eritrócitos para medida do fluxo glicolítico.

#### 2.1.3.5.3. Procedimento

O fluxo glicolítico de suspensões eritrocitárias foi determinado em termos de consumo de glicose em sistemas incubados a 37°C, durante o período máximo de 180 minutos (BACILA, ROSA & BACILA, 1991). Para fins da mensuração de tais valores, suspende-se 1,0 ml de papa eritrocitária, obtida conforme o item 2.1.3.3., em 8,8 ml de solução tampão pH 7,8, adicionando-se 0,2 ml de solução de glicose 0,1 M.

Durante o período de incubação, o sistema foi mantido sob suave agitação, utilizando-se para tanto, frascos e manômetros do respirômetro de Warburg, e a verificação do consumo da glicose foi mensurada conforme a técnica da orto-toluidina, descrita em 2.2.1., aos 90 e 180 minutos de incubação com glicose.

## 2. Métodos Analíticos

### 2.2.1. Glicose

Para a determinação dos valores de glicose, a metodologia adotada foi a da orto-toluidina, desenvolvida por NIKKILA & HYVARIWEN (1962). Este método tem como princípio o fato de que a reação entre açúcares redutores e a orto-toluidina produz soluções coloridas cuja intensidade é proporcional à concentração dos glicídios presentes. No caso da glicose, esta, através de seu grupo redutor, condensa-se com a orto-toluidina formando mistura em equilíbrio de glicosil-o-toluidina e a correspondente base de Schiff, de coloração azul-esverdeada, cuja absorbância é medida em 630 nm (Figura 5).

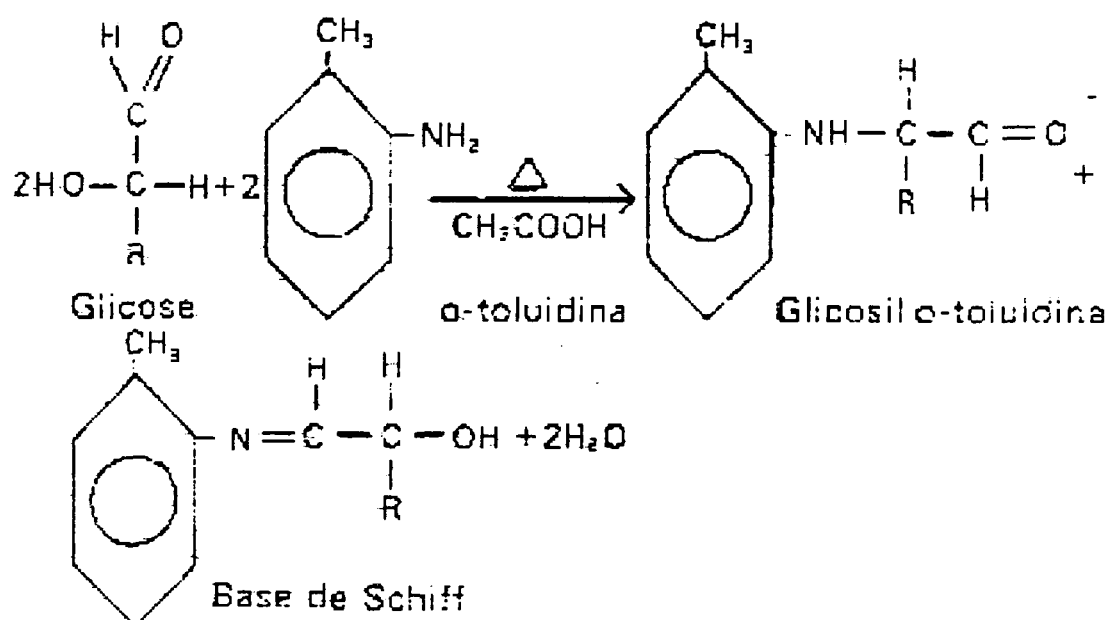


Figura 5. Mecanismo da reação da orto-toluidina com glicose.

### 2.2.1.1. Reativo cromogênico

Ácido acético glacial	940 ml
Orto-toluidina	60 ml
Tiouréia	1,5 g

### 2.2.1.2. Curva padrão de glicose

É estabelecida entre os limites de 10 a 70  $\mu$ g de glicose, a partir de uma solução padrão contendo:

Glicose anidra	100 mg
Ácido benzóico	100 mg
Água destilada q.s.p.	100 ml

A curva padrão é então estabelecida, em misturas contendo de 0,1 a 0,7 ml de solução padrão, de água destilada até 0,1 ml e 6,0 ml de reativo cromogênico de orto-toluidina. Após incubação em banho-maria fervente, por 8 minutos, seguida de resfriamento, a intensidade da cor é medida a 630 nm.

### 2.2.1.3. Determinação da glicemia

Para a dosagem da glicose sanguínea, tratar 0,1 ml de sangue total ou de plasma com 1,0 ml de ácido tricloroacético a 3%, e centrifugar 10 minutos a 10.000 rpm. Transferir para um tubo de ensaio, 0,4 ml do sobrenadante, adicionar 6,0 ml do reativo cromogênico de orto-toluidina, colocar em banho-maria fervente por 8 minutos, resfriar rapidamente e ler a absorbância da cor desenvolvida em 630 nm.

### III. RESULTADOS

#### 3.1. Hemograma

##### 3.1.1. Guanacos (*Lama guanicoe*)

Os resultados sumarizados na tabela 2 foram obtidos através da colheita do sangue dos animais em estudo, com o sistema vacutainer®, em tubos estéreis, à vácuo, contendo como anticoagulante EDTA, seguindo a metodologia descrita anteriormente.

Tabela 2: Valores hematológicos da série vermelha e da série branca de guanacos (*Lama guanicoe*).

<b>Série vermelha</b>	<b>Guanaco macho</b>	<b>Guanaco fêmea</b>
Eritrócitos ( $\times 10^6/\mu\text{l}$ )	14.8	11.5
Hematócrito (%)	53	50
Hemoglobina (g/dl)	27.8	26.3
VGM ( $\mu\text{m}^3$ )	378.6	454.5
CHGM (%)	52.5	52.7
<b>Série branca</b>		
Leucócitos totais ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )	30.2	14.0
Neutrófilos (%)	26	32
Bastonetes (%)	9	4
Linfócitos (%)	65	64
Monócitos (%)	0	2
Eosinófilos (%)	9	2
Basófilos (%)	0	0

Os valores para a série vermelha do animal do sexo masculino possuem proximidade quando comparados ao exemplar do sexo oposto. O guanaco fêmea possui um menor número de eritrócitos, mas em contrapartida, um volume globular médio (VGM) aproximadamente 17% superior. Já o hematócrito, a taxa de hemoglobina e a concentração da hemoglobina globular média (CHGM) dos animais são praticamente os mesmos.

A série branca demonstra diferenças mais marcantes no número de leucócitos totais e de eosinófilos, sendo que guanaco macho apresenta índices superiores, quando comparado ao

outro animal. Como poderá ser visto adiante, não há como se definir se esses parâmetros de maior valor estão em conformidade com o indivíduo saudável. Provavelmente tais valores se referem à alguma reação inflamatória, não identificada, apresentando aumento de bastonetes e eosinófilos, sendo este último um estado normalmente encontrado em camelídeos, conforme relatos feitos por FOWLER et al (1989).

A Tabela 3 compara os valores obtidos no presente trabalho com os encontrados na literatura.

Tabela 3: Valores comparativos entre dados de hemograma encontrados por diversos autores e neste estudo para guanacos (*Lama guanicoe*).

<b>Série vermelha</b>	<b>Macho</b>	<b>Fêmea</b>	<b>JAIN (1990)</b>	<b>FOWLER (1993)</b>	<b>HAWKEY &amp; GULLAND (1987)</b>
Eritrócitos ( $\times 10^6/\mu\text{l}$ )	14.8	11.5	8,9-11,7	6,2-15	13,5-14,6
Hematócrito (%)	53	50		35-40	34-37
Hemoglobina (g/dl)	27.8	26.3	14,6-19,2	13,9-15	14,9-16,5
VGM ( $\mu\text{m}^3$ )	378.6	454.5			
CHGM (%)	52.5	52.7			
<b>Série branca</b>					
Leucócitos totais ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )	30.2	14.0	6,4-17	5,1-12	2,7-14,7
Neutrófilos (%)	26	32	14-35	55-64	1,5-9,2
Bastonetes (%)	9	4			
Linfócitos (%)	65	64	15-27	24-33	0,9-5,5
Monócitos (%)	0	2	0,5-2,5	0-4	0-0,7
Eosinófilos (%)	9	2	4,0-16,5	1-5	0-2,1
Basófilos (%)	0	0	1-2	0-2	0

Pode-se analisar, pelos resultados obtidos, que não existem valores semelhantes entre os hemogramas encontrados na literatura. Observa-se apenas que há uma proximidade média entre os valores da série vermelha, mas quanto aos valores da série branca, observa-se total dispersão de resultados.

### 3.1.2. Alpacas (*Lama pacos*)

Os resultados sumarizados na tabela 4 foram obtidos através da metodologia anteriormente descrita, e são comparados com valores descritos por JAIN (1991).

Como ocorrido nos estudos comparativos aos guanacos, observa-se disparidade entre os valores encontrados neste estudo com os da literatura. Infelizmente, apenas o autor citado estudou o hemograma destes animais, não havendo assim, maiores dados para fins comparativos.

Tabela 4: Hemograma de alpacas (*Lama pacos*) em estudo, comparados à JAIN (1991).

<b>Série vermelha</b>	<b>Macho</b>	<b>Fêmea</b>	<b>JAIN (1991)</b>
Eritrócitos ( $\times 10^6/\mu\text{l}$ )	11.2	13.6	7,8-10,8
Hematócrito (%)	40	28	
Hemoglobina (g/dl)	20.3	15.5	7,5-16,7
VGM ( $\mu\text{m}^3$ )	36.3	21.5	
CHGM (%)	50.7	55.5	
<b>Série branca</b>			
Leucócitos totais ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )	35.5	11.4	6,9-15,5
Neutrófilos (%)	53	30	16-32
Bastonetes (%)	8	6	
Linfócitos (%)	43	68	14-27
Monócitos (%)	1	2	0-0,5
Eosinófilos (%)	0	0	9-33,5
Basófilos (%)	0	0	0-1,5

Conforme descrito anteriormente, uma característica da família Camelidae muito marcante é a alta concentração eritrocitária de hemoglobina. Quando comparada a animais pertencentes à sua ordem, *Artiodactyla*, mas em famílias diferentes, essa característica se sobressai. A Figura 6 ilustra o fato, e compara os dados obtidos nesse estudo com a literatura (JAIN, 1991), em alguns animais pertencentes à ordem *Artiodactyla*. Há também a inclusão dos dados de literatura para a lhama (*Lama glama*), o qual também se destaca dos demais.

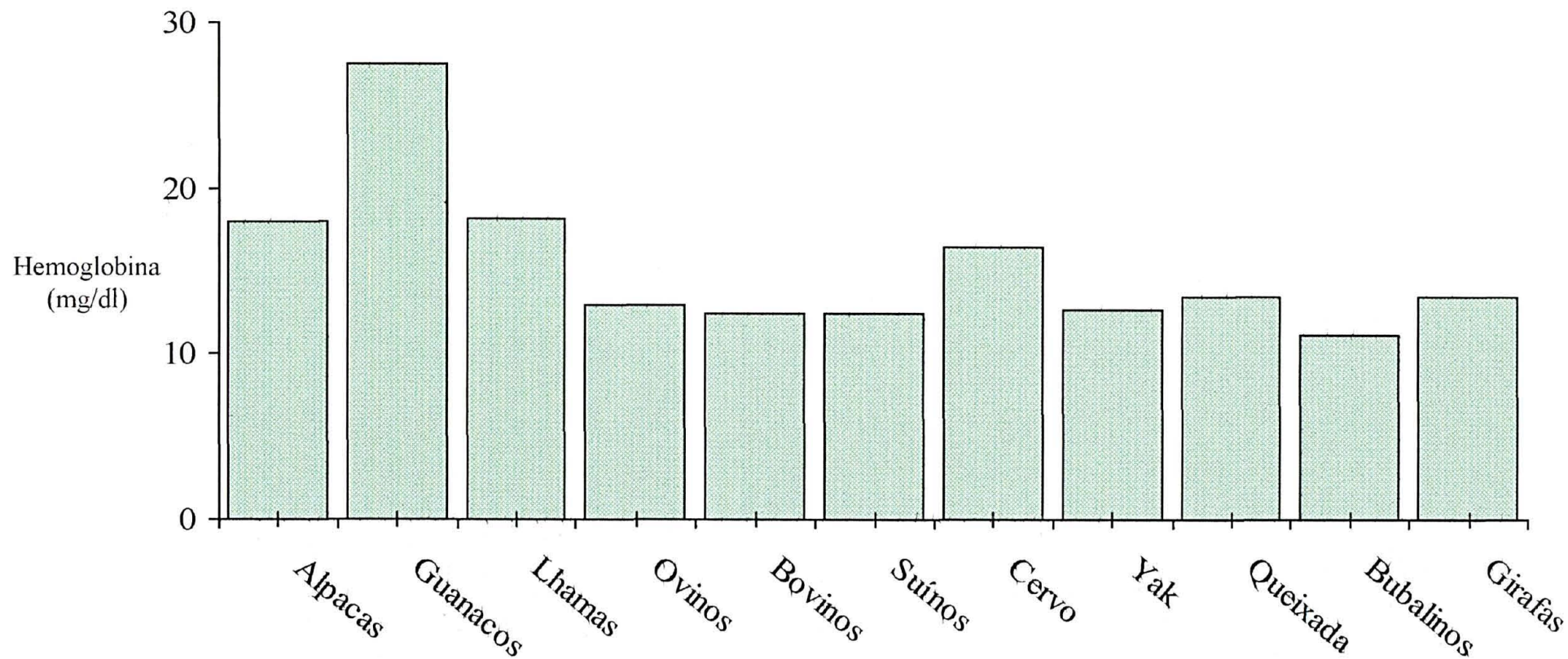


Figura 6: Comparação entre valores de hemoglobina (g/dl) de diversos animais da ordem *Artiodactyla*.

### 3.2. Bioquímica

#### 3.2.1. Glicemia plasmática

A taxa da glicose plasmática dos animais estudados, expressa em mg/dl, está na Tabela 5, onde se inclui, também, dados de literatura para camelos (*Camelus bactrianus*), por FAYE et al, (1995).

Tabela 5: Taxas para a glicose plasmática de guanacos (*Lama guanicoe*), alpacas (*Lama pacos*) e camelos (*Camelus bactrianus*).

Animal	Valor GLU (mg/dl)
Alpaca macho	90,5148
Alpaca fêmea	91,5732
Guanaco macho	92,5181
Guanaco fêmea	90,9767
Camelo	111

Observam-se valores lineares, onde se pode concluir que a média se encontra em torno de 91,3 mg/dl. A Figura 7 representa graficamente os resultados obtidos.

#### 3.2.2. Desidrogenase do lactato (LDH)

Conforme a Tabela 6, os seguintes valores foram obtidos para a desidrogenase do lactato sérica (LDH):

Tabela 6: Valores séricos para a desidrogenase do lactato para guanacos (*Lama guanicoe*) e alpacas (*Lama pacos*), expressos em Unidades por litro (U/l).

Animal	Valor (U/l)
Guanaco macho	446,2382
Guanaco fêmea	249,8040
Alpaca macho	313,5188
Alpaca fêmea	412,5931

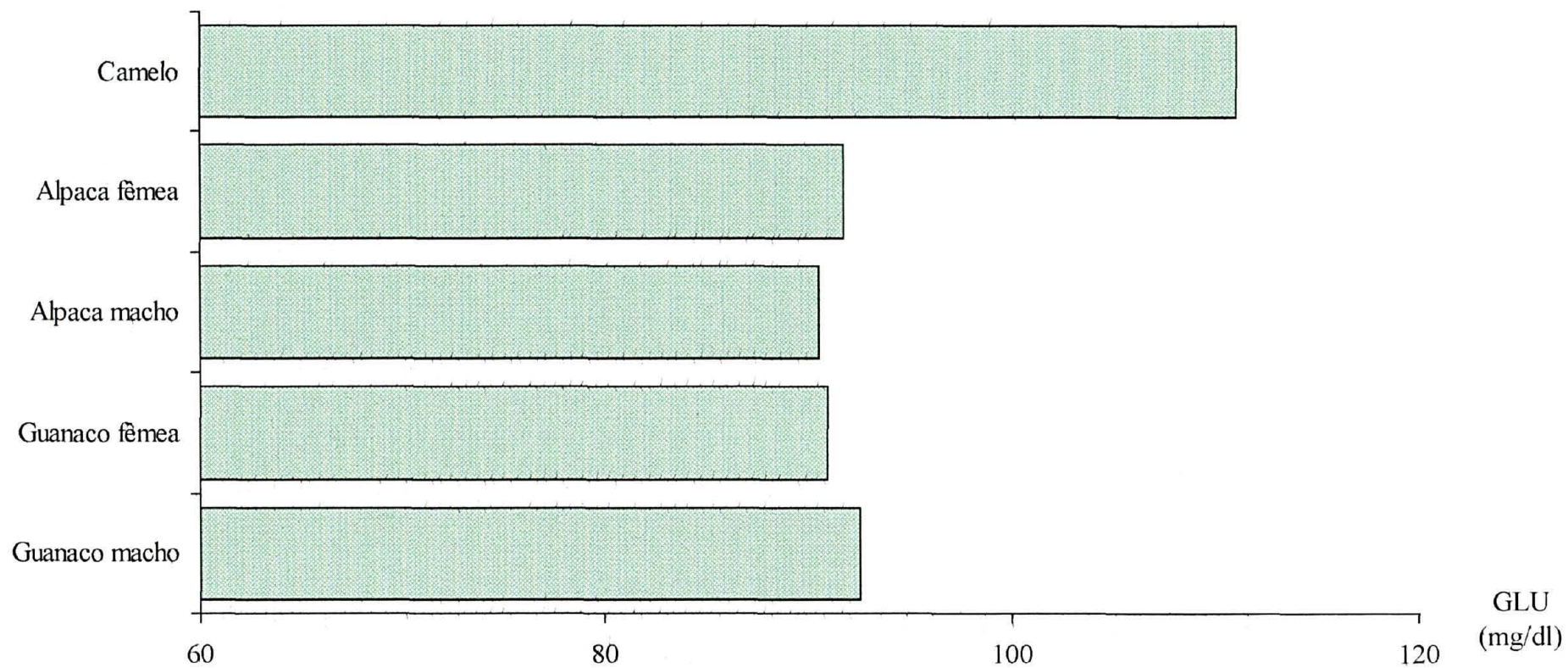


Figura 7: Gráfico comparativo entre os valores calculados para a glicose plasmática (GLU), para guanacos (*Lama guanicoe*) e alpacas (*Lama pacos*) em estudo, e para camelos (*Camelus bactrianus*) expressos em (mg/dl).

Para esse parâmetro bioquímico, observa-se que o guanaco fêmea possuiu o menor valor, sendo seguido pelo exemplar de alpaca macho. Os demais animais mantiveram-se próximos entre si (figura 8).

### 3.2.3. Aspartato aminotransferase (AST) ou Transaminase glutâmico oxalacética (GOT)

Os índices encontrados para essa enzima estão representados na Tabela 7.

Tabela 7: Valores de AST/GOT para guanacos (*Lama guanicoe*) e alpacas (*Lama pacos*), expressos em Unidades por litro (U/l).

<b>Animal</b>	<b>Valor (U/l)</b>
Guanaco macho	24,7932
Guanaco fêmea	39,2850
Alpaca macho	70,11936
Alpaca fêmea	43,51032

O estudo da AST/GOT é realizado para avaliar-se o “status” fisiológico do fígado. A literatura estudada não fornece valores de referência para essa enzima. O que pôde ser observado pelos resultados alcançados é que os níveis de AST/GOT mostram grande variação, parecendo ser mais elevados nos exemplares de alpaca, quando comparados aos dos guanacos (Figura 9).

### 3.2.4. Uréia

Os valores expressos na Tabela 8 foram obtidos no estudo da uréia sérica.

Tabela 8: Valores para uréia sérica de guanacos (*Lama guanicoe*) e alpacas (*Lama pacos*), expressos em mg/dl.

<b>Animal</b>	<b>Valor (mg/dl)</b>
Guanaco macho	3,0323
Guanaco fêmea	2,8070
Alpaca macho	3,6209
Alpaca fêmea	3,1258

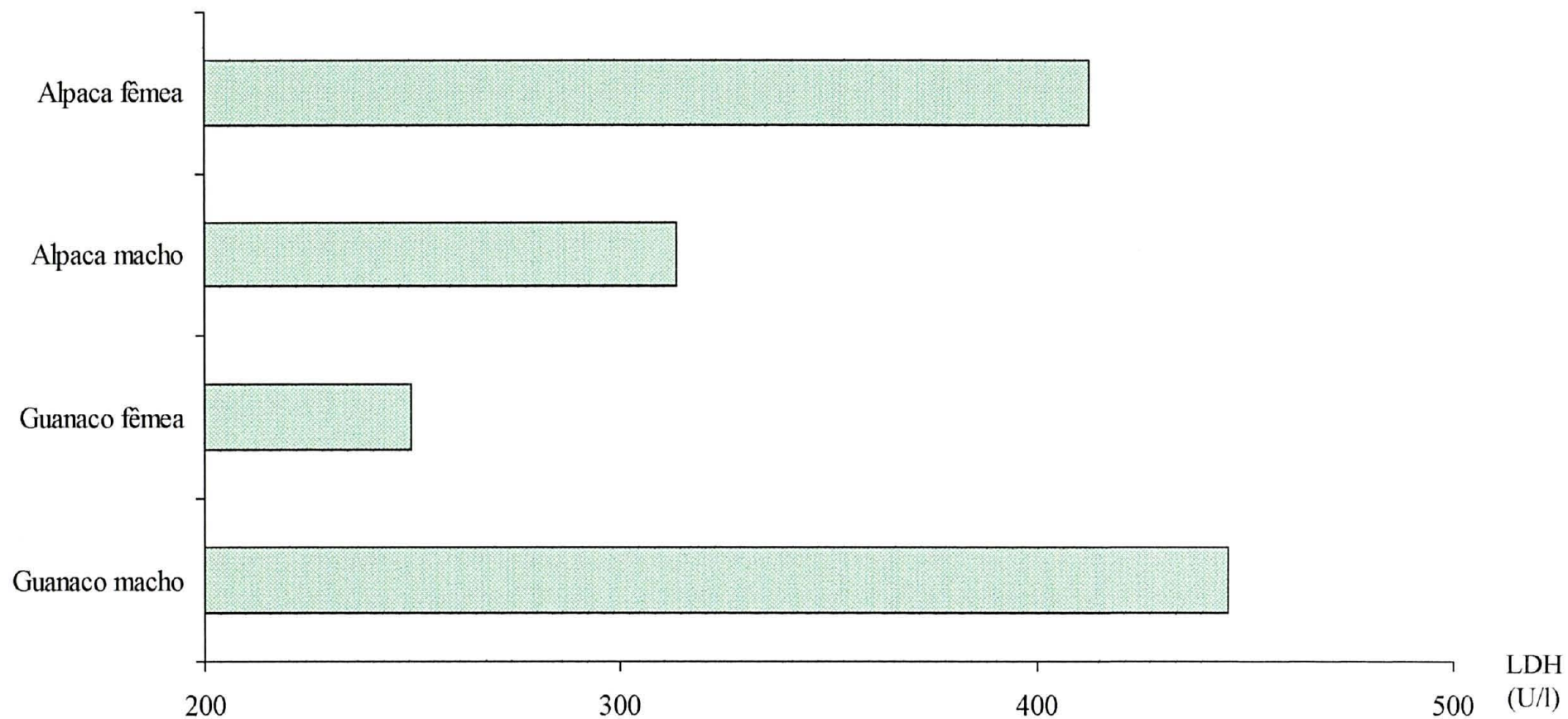


Figura 8: Gráfico comparativo entre os valores calculados para níveis séricos de desidrogenase do lactato (LDH), para guanacos (*Lama guanicoe*) e alpacas (*Lama pacos*) em estudo, expressos em U/l. Cada Unidade corresponde a  $1 \mu\text{Mol de NADH} + \text{H}^+ \cdot \text{Min}^{-1} \cdot \text{l}^{-1}$  de soro nas condições de teste.

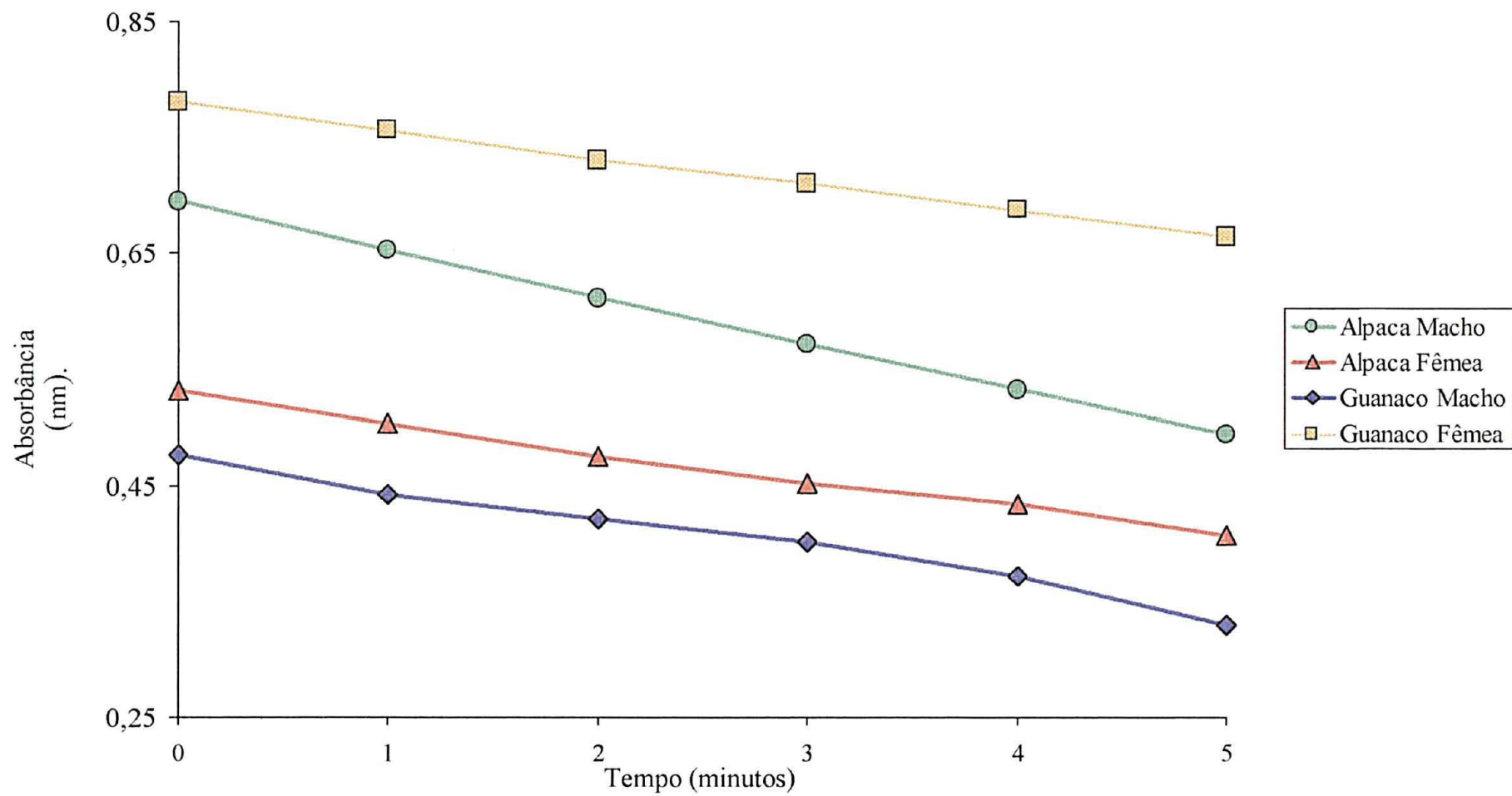


Figura 9: Valores da absorbância (ABS) de AST/GOT para as leituras em 0, 1, 2, 3, 4 e 5 minutos, em espectrofotômetro a 340 nm, para guanacos (*Lama guanicoe*) e alpacas (*Lama pacos*) em estudo.

Como em outros parâmetros estudados, as concentrações de uréia sérica revelam pequena variação, sendo a média de 3,1465 mg/dl. Esse teste é direcionado aos rins, sendo que a elevação fisiológica dos seus valores se faz pela dieta hiperprotéica ou com a idade. Ocorrem também por catabolismo elevado (febre, septicemia) e em casos de hemorragia interna. A Figura 10 representa graficamente os resultados obtidos.

### 3.3. Fluxo glicolítico

#### 3.3.1. Guanacos

A Tabela 9 mostra os valores obtidos para o fluxo glicolítico em eritrócitos do guanaco macho, em triplicata. Através da análise dos dados, pode-se concluir que não ocorreu consumo da glicose, já que os valores obtidos para a glicose residual entre o sistema constituído pela papa eritrocitária incubada com glicose e o controle utilizado foi insignificante.

Tabela 9: Valores para o fluxo glicolítico em eritrócitos de guanaco macho incubados com glicose.

<b>Amostra</b>	<b>Tampão Fosfato- Imidazol (ml)</b>	<b>Glicose 0,1 M (ml)</b>	<b>Suspensão eritrocitária (ml)</b>	<b>Absorbância a 630 nm pela reação da o- toluidina após 180 minutos</b>
Ctrl	9,8	0,2	-	0,1611
GM1	8,8	0,2	1,0	0,1775
GM2	8,8	0,2	1,0	0,1763
GM3	8,8	0,2	1,0	0,1704

A Tabela 10 mostra os valores obtidos para o fluxo glicolítico do guanaco fêmea, em triplicata. Através da análise dos dados, pode-se concluir que não ocorreu consumo da glicose, visto que os valores obtidos para a glicose residual entre o sistema constituído pela papa eritrocitária incubada com glicose e o controle utilizado foi insignificante.

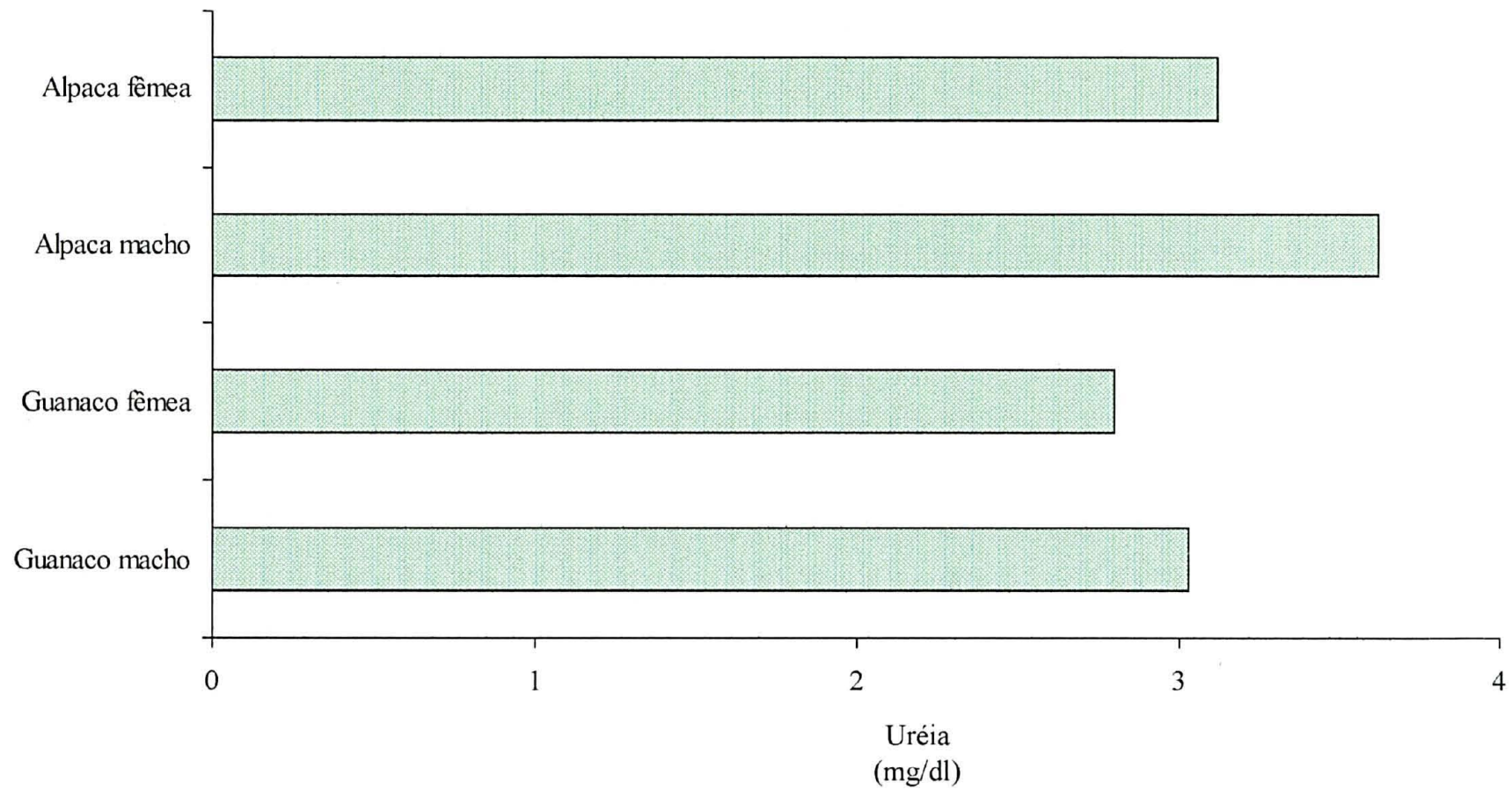


Figura 10: Valores calculados para uréia sérica, para guanacos (*Lama guanicoe*) e alpacas (*Lama pacos*) em estudo, expressos em mg/dl.

Tabela 10: Valores para fluxo glicolítico em eritrócitos de guanaco fêmea incubados com glicose.

<b>Amostra</b>	<b>Tampão Fosfato- Imidazol (ml)</b>	<b>Glicose 0,1 M (ml)</b>	<b>Suspensão eritrocitária (ml)</b>	<b>Absorbância a 630 nm pela reação da o- toluidina após 180 minutos</b>
Ctrl	9,8	0,2	-	0,1519
GF1	8,8	0,2	1,0	0,1633
GF2	8,8	0,2	1,0	0,1599
GF3	8,8	0,2	1,0	0,1666

### 3.3.2. Alpacas

A Tabela 11 mostra os valores obtidos para o fluxo glicolítico de eritrócitos de alpaca macho, em triplicata. Através da análise dos dados, pode-se concluir que não ocorreu consumo de glicose, visto que os valores obtidos para a glicose residual. No sistema constituído pela papa eritrocitária incubada com glicose e o controle utilizado foi insignificante.

Tabela 11: Valores para o fluxo glicolítico em eritrócitos de alpaca macho incubados com glicose.

<b>Amostra</b>	<b>Tampão Fosfato- Imidazol (ml)</b>	<b>Glicose 0,1 M (ml)</b>	<b>Suspensão eritrocitária (ml)</b>	<b>Absorbância a 630 nm pela reação da o- toluidina após 180 minutos</b>
Ctrl	9,8	0,2	-	0,1751
AM1	8,8	0,2	1,0	0,1822
AM2	8,8	0,2	1,0	0,1719
AM3	8,8	0,2	1,0	0,1803

A tabela 12 mostra os valores obtidos para o fluxo glicolítico de eritrócitos de alpaca fêmea, em triplicata. Através da análise dos dados, pode-se concluir que não ocorreu consumo da glicose, visto que os valores obtidos para a glicose residual entre o sistema constituído pela papa eritrocitária incubada com glicose e o controle utilizado foi insignificante.

Tabela 12: Valores para fluxo glicolítico em eritrócitos de alpaca fêmea incubados com glicose.

<b>Amostra</b>	<b>Tampão Fosfato- Imidazol (ml)</b>	<b>Glicose 0,1 M (ml)</b>	<b>Suspensão eritrocitária (ml)</b>	<b>Absorbância a 630 nm pela reação da o- toluidina após 180 minutos</b>
Ctrl	9,8	0,2	-	0,1503
AF1	8,8	0,2	1,0	0,1602
AF2	8,8	0,2	1,0	0,1558
AF3	8,8	0,2	1,0	0,1569

#### IV. DISCUSSÃO

Os camelídeos possuem características únicas da espécie, sendo a morfologia e a fisiologia do seu sangue uma das mais marcantes.

O acesso para colheita de sangue nos camelídeos é difícil. A venipunção da jugular é arriscada, pois a artéria carótida e o tronco vago-simpático estão situados na mesma região (Figura 11). Ainda, na região cervical esquerda há a presença do esôfago, tornando o procedimento mais complicado. Como os animais estudados eram dóceis, optou-se pela colheita de sangue na veia femoral, localizada na região medial dos membros pélvicos. É uma veia de fácil acesso, mas para a colheita de sangue os animais devem estar muito bem contidos, afim de evitar que reajam contra o processo de colheita de sangue.

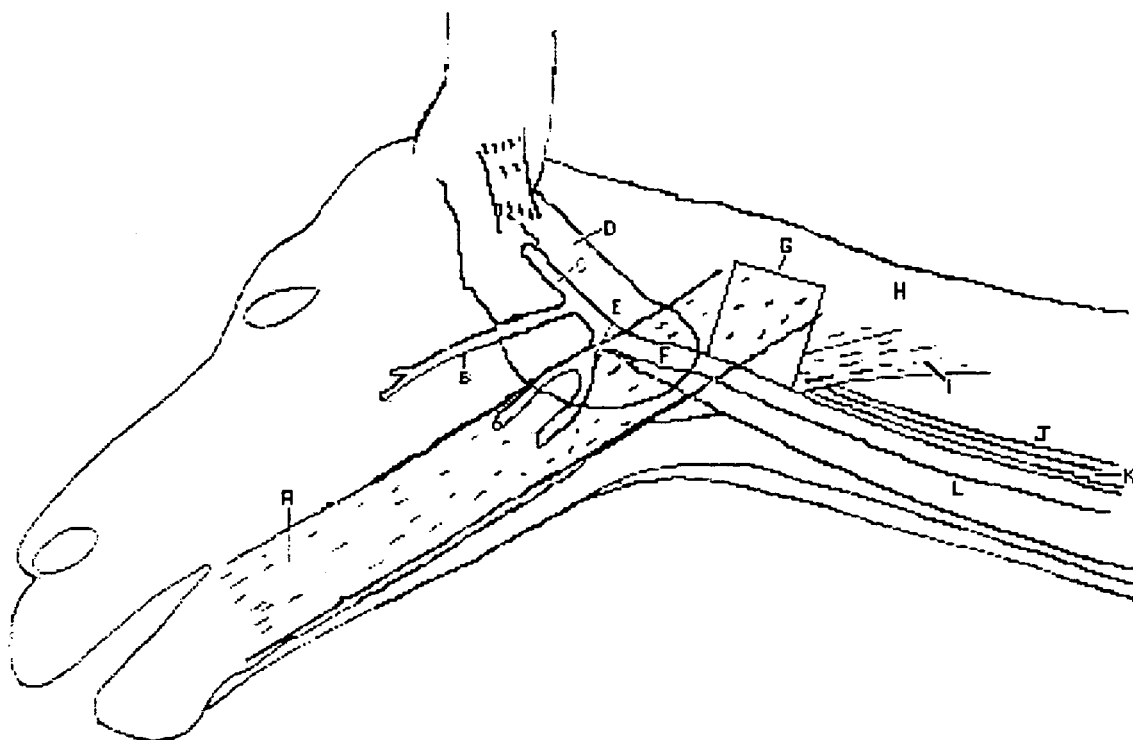


Figura 11: Diagrama da relação da veia jugular com as demais estruturas presentes no pescoço de camelídeos sul-americanos. *A*, músculo platísmo; *B*, veia bucal; *C*, veia maxilar; *D*, glândula salivar; *E*, veia linguofacial; *F*, veia jugular; *G*, local preferencial para venipunção; *H*, linha da borda ventral da mandíbula; *I*, músculo omohioideo; *J*, músculo braquicefálico; *K*, artéria carótida e *L*, músculo esternomandibular (Modificado de FOWLER, 1986).

A defesa dos guanacos e alpacas, bem como dos demais camelídeos sul-americanos se dá através de coices, e principalmente pelo ato de “cuspir” nos seus agressores, preferencialmente na região dos olhos. Esses animais conseguem regurgitar material de seu estômago, quando acuados e assim impedir que seu inimigo tenha sucesso. Pode-se antecipar esse ato, pois consegue-se escutar o animal regurgitando e desta via, esperar o ataque.

Os eritrócitos dos mamíferos são anucleados, enquanto que os das aves e dos répteis, são nucleados e possuem desta forma, mitocôndria e retículo endoplasmático, o que os torna, praticamente, células somáticas típicas (BACILA, 1980). Outrora, pensou-se que os eritrócitos dos camelídeos eram nucleados. Trabalhos de investigação científica foram realizados como o de SINGH et al (1997), onde se concluiu que os eritrócitos dos camelídeos não possuem organelas intracelulares.

O glóbulo vermelho dos mamíferos é constituído por cerca de 65% de água e 35% de substâncias sólidas, dos quais a hemoglobina representa de 32% a 35% do total. A parte restante é formada pelo estroma, contendo proteínas, fosfolípidios e colesterol, e por íons inorgânicos como o potássio, cloro, bicarbonato e fosfato.

Os camelídeos são a única família a possuir eritrócitos com forma elíptica, o que os torna objeto de estudo para hematologistas de todo o mundo. O formato dos eritrócitos de dromedários foi estudado por ELAMIN et al (1980), por HAWKEY et al (1988) e por OMORPHOS et al (1989), concluindo que o citoesqueleto dos eritrócitos possui características únicas. MARCHESI (1985) efetuou pesquisas sobre a membrana eritrocitária, encontrando várias proteínas, que quanto à sua mobilidade relativa correspondem às faixas 1; 2; 3; 4,1; 4,2; 5 e 6 que aparecem em eletroforese de gel de poliacrilamida em preparações tratadas com sódio dodecil sulfato (SDS). Há a presença de mais quatro faixas de proteínas que reagem com o reagente de ácido periódico-Schiff (PAS), as glicoforinas, glicoproteínas transmembrana, ricas em carboidratos. Os camelídeos possuem, na eletroforese das membranas de seus eritrócitos pequena quantidade de anquirina (banda 2.1). Contém a pré-banda 1 com proteínas de alto peso molecular, possuindo taxa de espectrina 0,7 quando comparada a 1,3 de eritrócitos humanos (HAWKEY et al, 1988; OMORPHOS et al, 1989). Os eritrócitos dos camelos são relativamente não deformáveis. As concentrações eritrocitárias de selênio presentes possuem significativa correlação com a atividade do glutatíon-peroxidase.

A combinação do formato elíptico da membrana eritrocitária e sua relativa rigidez resulta em uma célula sanguínea vermelha com uma alta área de superfície em comparação ao seu volume, o que facilita uma rápida difusão de oxigênio SMITH et al (1991).

A única fonte de energia para manter a integridade do eritrócito dos mamíferos e evitar que a hemoglobina se oxide a meta-hemoglobina é a glicose oriunda do plasma. Do total da glicose abstraída do plasma, 90% são glicosilados a lactato produzindo ATP para a bomba de sódio e NADH para reduzir a meta-hemoglobina à hemoglobina. Os restantes 10% são utilizados na via das pentose-fosfatos produzindo NADPH necessário para manter a integridade da membrana celular durante o tempo de vida da hemácia.

Além disso, a hemácia dos mamíferos não metaboliza glicogênio, sendo ainda incapaz de sintetizá-lo. Esta célula também é incapaz de sintetizar ácidos graxos e aminoácidos a partir da glicose e não conhece o metabolismo de reversão da via glicolítica (anexo 1), razão pela qual não faz gliconeogênese.

ROSA et al (1983; 1989) estudaram os eritrócitos de *Gallus gallus domesticus* e de pingüins *Pygoscellidae*, concluindo que este tipo de animal possui metabolismo glicídico defeituoso, sendo incapaz de permear a glicose e produzir ácido láctico quando incubados com glicose, na forma de células intactas. Assim, apesar do eritrócito de aves transportar oxigênio, parece evidente que a principal fonte de energia dessas células difere daquela dos mamíferos.

Por outro lado, os eritrócitos de aves possuem as enzimas do ciclo dos ácidos tricarbóxicos e nesse caso produzem ATP de modo mais eficiente do que os eritrócitos de mamíferos. O eritrócito das aves contém pouca ou nenhuma glicose, mas o plasma, em comparação com os mamíferos, possui taxas muito altas (230-290 mg/dl). No homem, a taxa glicêmica, mensurada tanto no plasma como no sangue total, proporciona valores comparáveis, já que a glicose se difunde uniformemente entre o plasma e o eritrócito.

Em estudos conduzidos por BACILA (1989), comparativamente demonstrou-se que dentre os animais domésticos e o homem, apenas os eritrócitos humanos possuem a capacidade para consumir glicose em sistema de fluxo glicolítico, ou seja, o eritrócito humano é metabolicamente operante (Tabela 13).

Tabela 13: Valores relativos ao fluxo glicolítico de animais domésticos e do homem, obtidos aos 150 minutos de incubação, a 630 nm, pela reação da o-toluidina (BACILA, Maurício 1989).

ERITRÓCITOS	ABSORBÂNCIA A 630 nm DA REAÇÃO DA o-TOLUIDINA COM A GLICOSE RESIDUAL		PERCENTUAL RELATIVO DE UTILIZAÇÃO DA GLICOSE
	CONTROLE	TESTE	
Ovino	0,045	0,055	-
Bovino		0,050	-
Equino		0,067	-
Canino		0,063	-
Homem	0,070	0,057	18,6

Assim como ocorre em outros mamíferos, com exceção do homem, o resultado do fluxo glicolítico para eritrócitos de camelídeos não foi representativo, e como pôde ser observado, não ocorreu consumo de glicose. Nos estudos realizados por BACILA, Maurício (1989), envolvendo ovinos, bovinos, equinos e caninos, houve a demonstração de que esses animais não possuem valores para fluxo glicolítico consistentes. Entre mamíferos, já foi verificado que os eritrócitos de suínos possuem dificuldade para operar a via glicolítica (KIM et al, 1971).

No que tange à hemoglobina, observou-se por este estudo e em comparação com dados obtidos por diversos autores, que os camelídeos possuem até 50% a mais de hemoglobina em seus eritrócitos, se comparados a outros mamíferos. A concentração da hemoglobina globular média (CHGM) dos eritrócitos de mamíferos em geral se situa ao redor de 33%. Em contraste, os eritrócitos dos camelídeos possuem um valor de CHGM acima dos 40%. Isso só se torna possível devido ao fino formato dos eritrócitos, já que na centrifugação essas células possuem maior capacidade para se compactar, causando um baixo hematócrito, em relação proporcional à quantidade de hemoglobina que possui. Em consequência disso, há elevação no valor da CHGM, pois:

$$\text{CHGM} = \frac{\text{Hb} \times 100}{\text{Ht}}$$

Onde CHGM= concentração da hemoglobina globular média; Hb: hemoglobina; Ht: hematócrito.

BARTELS (1963) estudou as funções respiratórias do sangue de lhama, camelo, yak, cervo e elefante, encontrando resultados muito interessantes. O valor para a hemoglobina sanguínea encontrado, expressa em g/dl demonstrou que os da lhama e do camelo eram superiores aos dos demais animais, sendo o elefante o de menor valor. Em contrapartida, a mais alta taxa de afinidade por oxigênio foi encontrada neste, seguido pela lhama e pelo camelo. Assim, neste caso, concluiu-se que a massa metabólica do elefante possui uma correlação com a afinidade por oxigênio.

Conforme os resultados obtidos para o hemograma dos camelídeos, pode-se concluir que devido a sua grande capacidade adaptativa, os valores de literatura, quando comparados entre si e com os aqui obtidos, nos revelam que algumas características são mantidas, como alta taxa de hemoglobina e, em contrapartida hematócrito baixo.

SMITH et al (1991) e MORIN et al (1992) observaram a ocorrência de anemia em filhotes de lhamas. As causas dessa deficiência não puderam ser determinadas, mas existem relatos de um parasita sanguíneo, o *Eperythrozoon*, sendo o fator causal de tal anemia (REAGAN et al, 1990).

Os autores supracitados concordam que as características eritrocitárias dessa família tais como, alta afinidade hemoglobina-oxigênio, alta CHGM e diferenças existentes no 2,3-difosfoglicerato são responsáveis pela capacidade desses animais de tolerarem uma anemia crônica e severa.

SAEED et al (1995) fizeram um estudo muito interessante sobre os efeitos do armazenamento do soro, em 4°C, a concentração dos componentes séricos do sangue de camelos. Dentre os diversos fatores estudados, foi avaliada a viabilidade do soro para exames de LDH, a AST/GOT e a glicose.

Estes dados são importantes para justificar a imediata realização dos testes desenvolvidos no presente trabalho. Observa-se que para o LDH há uma queda de aproximadamente 33% da sua atividade, quando o soro permanece armazenado a 4°C por 9 dias. A atividade da AST/GOT não demonstrou alterações, para o mesmo período. Já a glicose permanece estável por três dias a 4°C. Essa característica não foi observada no soro de outros animais, como equinos e bovinos, e parece ser única aos camelídeos.

Um dado de extrema significância pôde ser observado na realização do estudo da uréia sérica. Neste trabalho, os valores mantiveram-se muito abaixo dos valores encontrados para os demais mamíferos, fato confirmado por FAYE et al (1995), para dromedários, demonstrando que esta característica também é única à espécie. A tabela 14 expõe comparativamente os valores para uréia em diversos animais domésticos e os valores para camelídeos encontrados.

Tabela 14: Valores para a uréia sanguínea de animais domésticos e camelídeos.

<b>Animal</b>	<b>Uréia (mg/dl)</b>
Cão	10-28
Gato	20-30
Cavalo	10-24
Boi	20-30
Carneiro	8-20
Bode	10-20
Porco	10-30
Camelo	2.6-4.8
Alpacas	3.37
Guanacos	2.92

Outro dado importante foi obtido por ELAMIN & SAHA (1979). Estes autores estudaram as proteínas sanguíneas de uma população de 135 dromedários e definiram que há evidências de polimorfismo em duas das quatro proteínas séricas do sangue dos animais. Os resultados estão demonstrados na Figura 12, onde se pode observar variantes de albumina e apoglobinas.

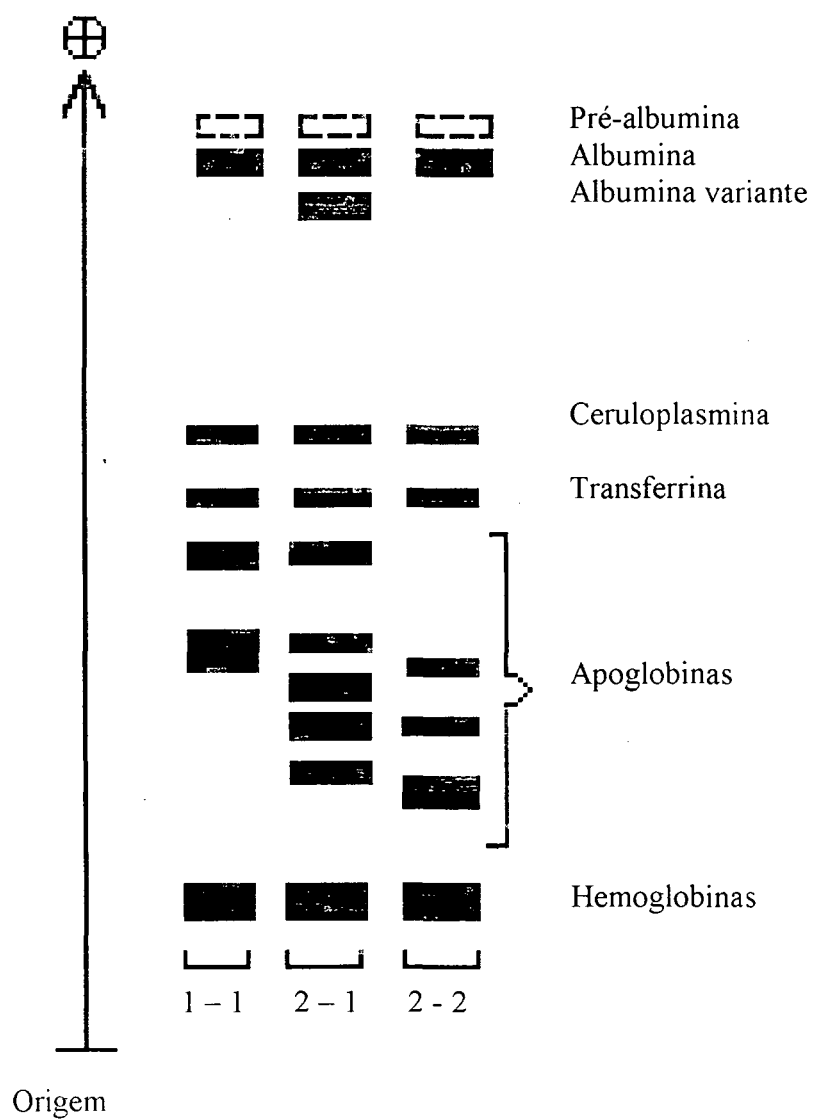


Figura 12: Diagrama demonstrando os padrões eletroforéticos de soro de dromedário (*Camelus dromedarius*) (Modificado de ELAMIN & SAHA, 1980).

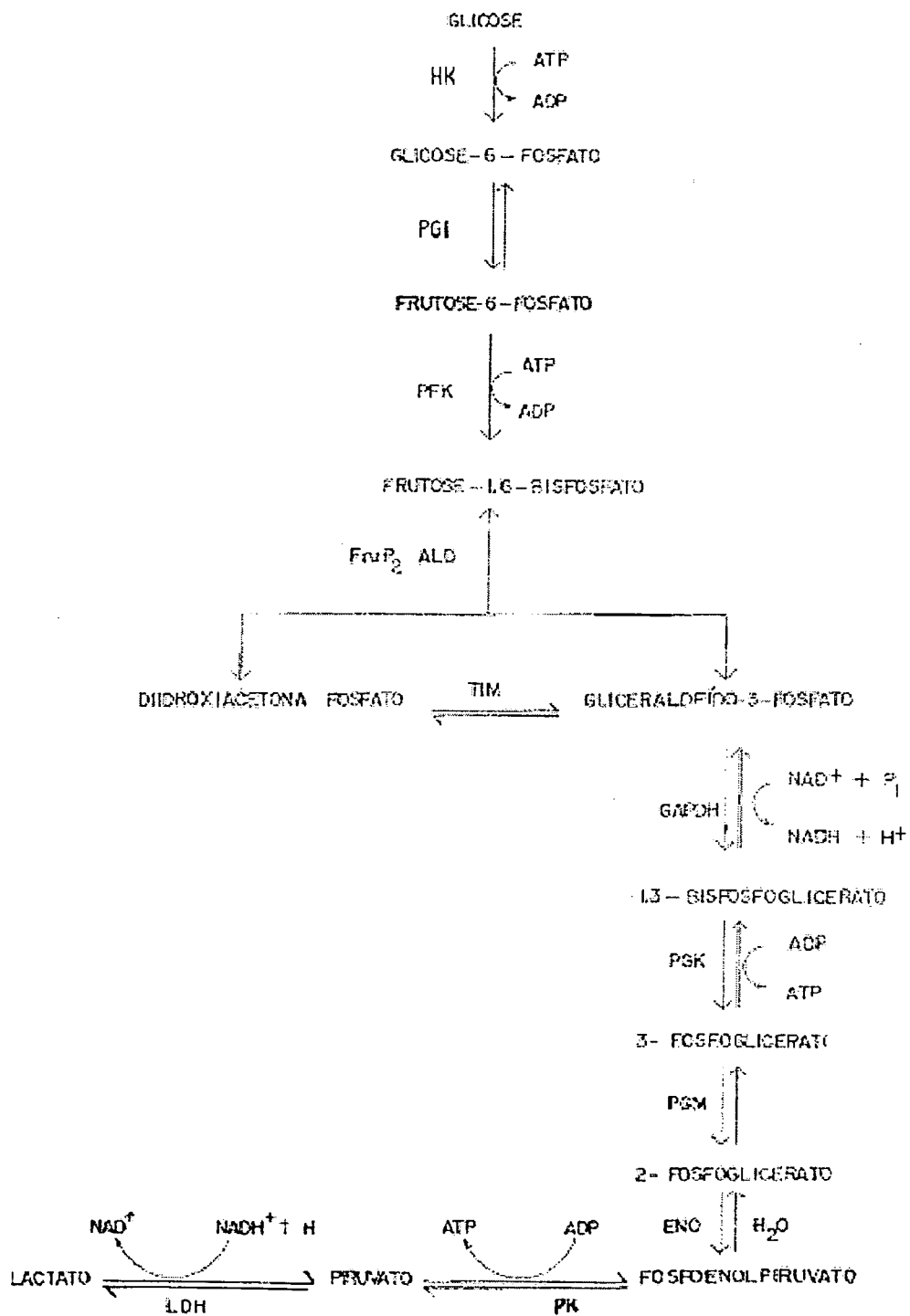
## V. CONCLUSÕES

Considerando os resultados obtidos, e conforme a discussão realizada, pode-se concluir que:

1. A mais fácil maneira de adquirir amostras de sangue de alpacas e guanacos é através da punção da veia femoral, com a simples contenção física dos animais;
2. Os camelídeos possuem eritrócitos com forma elíptica e anucleados;
3. Em termos de consumo de glicose em fluxo glicolítico, os guanacos e alpacas provaram não possuir capacidade de consumir glicose e formar ácido láctico por consequência, sendo assim metabolicamente inativos;
4. As taxas de hemoglobina encontradas para os animais em estudo foram altas, em comparação aos demais animais pertencentes à ordem *Artiodactyla*;
5. A concentração de glicose plasmática encontrada para alpacas e guanacos foi muito semelhante, ficando em média a 91,3 mg/dl;
6. Os resultados obtidos para a desidrogenase do lactato apresentaram-se dispersos;
7. Os valores encontrados para a aspartato aminotransferase ou transaminase glutâmico oxalacética não apresentaram linearidade, mostrando uma grande variação fisiológica;
8. A uréia sérica manteve-se próxima a 3,15 mg/dl para todos os animais, sendo que os camelídeos, aparentemente são os mamíferos que possuem a menor taxa de uréia, constituindo-se esta mais uma característica exclusiva da espécie;
9. Maiores estudos devem ser realizados para que o banco de dados existente sobre os camelídeos seja aumentado, visto a dificuldade encontrada e até mesmo a inexistência de informações sobre parâmetros biológicos básicos;
10. Estudos sobre as curvas de oxigenação da hemoglobina em camelídeos e estudos mais aprofundados na eritroenzimologia desses animais necessitam ser realizados, visto a necessidade de se elucidar diversos processos bioquímicos próprios dos camelídeos.
11. Devido à enorme capacidade adaptativa dessa família, a definição de valores de referência para a contagem das células sanguíneas é de difícil conclusão, sendo a regionalização dos resultados a maneira mais correta de se avaliar a espécie nesses parâmetros.

## VI. ANEXOS

## 8. 1. Via glicolítica de Embden-Meyerhof-Parnas.



## VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BACILA, M. *Bioquímica Veterinária*. São Paulo: J. M. Varela Livros Ltda, 534 p., 1980.

BACILA, Maurício. *Contribuição ao estudo do metabolismo glicídico em eritrócitos de animais domésticos*. Curitiba, 1989. Tese (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

BACILA, M; ROSA, R. & BACILA, Maurício. Técnicas para a determinação de níveis de enzimas eritrocitárias. In: XXV Congresso da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica. Curitiba, 1991.

BARTELS, H.; HILPERT, P.; BARBEY, K.; BETKE, K.; RIEGEL, K.; LANG, E. M. & METCALFE, J. Respiratory functions of blood of the yak, llama, camel, Dybowski deer, and African elephant. *American Journal of Physiology*, New York, 205(2):331-336, 1963.

BIZZETI, M. et al. Il metabolismo glico-lipidico del *Camelus dromedarius* allevato in Somalia. Nota 1. *Annali della Facoltà di Medicina Veterinaria di Pisa*, Pisa, 61: 373-376, 1988.

CARPIO, M. et al. South American camelids estimated population. In: FOWLER, M. E. *Zoo & Wild Animal Medicine*. 2. Ed. Philadelphia: W. B. Saunders Co. 1127 p. p. 728-737, 1986.

ELAMIN, F. M. & SAHA, N. Blood protein polymorphism in the one-humped camel (*Camelus dromedarius*) in the Sudan. *Animal Blood Groups, Biochemistry and Genetics*, London, 11(10): 39-41, 1980.

- FAYE, B.; RATOYONANAHARY, M.; CHACORNAC, J. P. & SOUBRE, P. Metabolic profiles and risks of diseases in camels in temperate conditions. *Comparative Biochemistry and Physiology-A*, Oxford., 112(1): 67-73, 1995.
- FOWLER, M. E. et al. Reference ranges for hematologic and serum biochemical values in llamas (*Lama glama*). *American Journal of Veterinary Research*, Schaumburg, 50(12): 2049-2053, dec. 1989.
- FOWLER, M. E. Camelids. *Zoo & Wild Animal Medicine*. 2. Ed. Philadelphia: W. B. Saunders Co. 1127 p. p. 969-981, 1986.
- FOWLER, M. E. Reproductive anatomy and physiology of camels. *Zoo & Wild Animal Medicine – Current Therapy* 3. Philadelphia: W. B. Saunders Co., 876 p. p. 525-532, 1995.
- FRASE, M. D. et al. Plasma biochemical values in the guanaco (*Lama guanicoe*) compared with the sheep. In: Proceedings of the British Society of Animal Science (1997, Scarborough). *Abstracts*. England, 436 p. p. 166, 1997.
- GAUTHIER-PILTERS, H & DAGG, A. I. *The Camel*. Chicago: University of Chicago Press, 1981.
- HAWKEY, C. M. & GULLAND, F. M. D. Haematology of clinically normal and abnormal captive llamas and guanaco. *The Veterinary Record*, London, 122(10): 232-234, 1988.
- JAIN, N. C. & KEETON, K. S. Morphology of camel and llama erythrocytes as viewed with the scanning electron microscope. *The British Veterinary Journal*, London, 130(3):288-291, 1974.
- JAIN, N. C. *Essentials of Veterinary Hematology*. Philadelphia: Lea & Febiger, 417 p. 1993.

- KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W. & BRUSS, M. L. Blood Analyte Reference Values in Animals. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 5. ed. San Diego: Academic Press. p. 890-901, 1997.
- KANTEK, C. E. *Manual de Hematologia Veterinária*. Curitiba, Apostila. Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Paraná, 126 p. , 1991.
- KIM, H. D. & McMANUS, T. J. Studies on the energy metabolism in pig red cells. I. The limiting role of membrane permeability in glycolysis. *Biochemistry and Biophysical Acta*, New York, 230: 1-11, 1971.
- MARCHESI, V. T. The cytoskeletal system of red blood cells. *Hospital Practice*, New York, 20(11): 113-131, 1985.
- MIRGANI, T. & URO, A. B. O. A study of gluconeogenesis in camel liver and kidney tissue. *Folia Veterinaria*, Paris. 36(1-2): 7-15, 1992.
- MORIN, D. E. et al. Hematologic features of iron deficiency anemia in Llamas. *Veterinary Pathology*, New York, 29(8): 400-404, 1992.
- NIKKILA, A. & HYVARIWEN, H. Specific determination of blood glucose with o-toluidine. *Clinical Chemistry Acta*, New York, 7:140-143, 1962.
- OMORPHOS, S. A.; HAWKEY, C. M. & RICE-EVANS, C. The elliptocyte: A study of the relationship between cell shape and membrane structure using the camelid erythrocyte as a model. *Comparative Biochemistry and Physiology [B]*, Oxford, 94: 789-796, 1989b.
- PERK, K. The Camel's Erythrocyte. *Nature*, London, 200(4903): 272-273, 19 oct. 1963.

- REAGAN, W. J. et al. The clinicopathologic, light, and scanning electron microscopic features of eperythrozoonosis in four naturally infected Llamas. *Veterinary Pathology*, New York, 27(7):426-431, 1990.
- ROSA, R.; RODRIGUES, E. & BACILA, M. Blood partition and levels of glycolytic enzymes in erythrocytes and somatic tissues of penguins. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, Oxford, 92(2): 307-311, 1989.
- ROSA, R.; ROSA, C. D.; OCAMPOS, D. & BACILA, M. The profile of the glycolytic system and the metabolic activity of chicken erythrocytes. *Comparative Biochemistry and Physiology*, Oxford, 75[B]: 141-145, 1983.
- ROSA, R.; ROSA, C. D.; OCAMPOS, D.; FERNANDES, L. R. V. & BACILA, M. Comparative levels between enzymes of the glycolytic pathway from erythrocytes and somatic tissues of the chicken *Gallus gallus domesticus*. *Comparative Biochemistry and Physiology [C]*, Oxford, 75[C]: 267-273, 1983.
- SAEED, A. et al. Effect of storage on some constituents of camel serum. *Australian Veterinary Journal*, Sydney, 72(6): 212-215, 1995.
- SINGH, G. et al. Ultrastructure of formed elements of blood of camel (*Camelus dromedarius*) Part I, II, III. *Journal of Camel Practice and Research*, Hisar, 4(1): 1-12, 1997.
- SMITH, B. B. et al. Erythrocyte dyscrasia, anemia, and hypothyroidism in chronically underweight llamas. *Journal of the American Medical Veterinary Association*, Schaumburg, 198(1): 81-88, 1991.
- SNOW, D. H.; BILLAH, A. & RIDHA, A. Effects of maximal exercise on the blood composition of the racing camel. *Veterinary Record*, London. 123: 311, 1988.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA. *Manual de Técnicas e Recomendações – Hematologia*. São Paulo, 1975.