

VALORES SANGÜÍNEOS DE REFERÊNCIA E INVESTIGAÇÃO SOBRE A PRESENÇA DE ANTÍGENOS ERITROCITÁRIOS CANINOS (DEA – dog erythrocyte antigen) EM LOBOS-GUARÁS (*Chrysocyon brachyurus*) E CACHORROS-DO-MATO (*Cerdocyon thous*)

Reference blood values and investigation on the occurrence of dog erythrocyte antigen (DEA)
in the maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*) and the crab eating dog (*Cerdocyon thous*)

Adriana Alonso Novais¹, José Jurandir Fagliari², Áureo Evangelista Santana²

RESUMO

O propósito desse estudo foi verificar os valores sangüíneos normais e a ocorrência do antígeno eritrocitário canino (dog erythrocyte antigen - DEA) na superfície dos eritrócitos de espécies de cães silvestres, na expectativa de adicionar novos dados sobre valores sangüíneos de referência e investigar as relações filogenéticas entre os caninos silvestres e domésticos. Para tanto, obtiveram-se amostras de sangue de 32 lobos-guarás e 16 cachorros-do-mato, pertencentes aos zoológicos de São Carlos-SP, Rio de Janeiro-RJ, São José do Rio Preto-SP, Brasília-DF, Belo Horizonte-MG, Americana-SP e Sorocaba-SP, e também do criadouro conservacionista da Companhia Brasileira de Metalurgia e Mineração (CBMM), localizado em Araxá-MG. Os valores sangüíneos encontrados para lobos-guarás e expressos como média e desvio padrão foram: Hemácias: $5,50 \pm 0,93 \times 10^6/\text{mL}$; Hb: $13,30 \pm 5,69$ g/dL; VG: $41,30 \pm 1,83$ %; VCM: $75,00 \pm 5,84$ fL; HCM: $27,00 \pm 4,04$ pg; CHCM: $32,00 \pm 1,15$ g/dL; Leucócitos: $14,80 \pm 4,50 \times 10^3/\text{mL}$; Neut. segm.: $10,20 \pm 3,50 \times 10^3/\text{mL}$; Neut. bast.: $0,10 \pm 0,10 \times 10^3/\text{mL}$; Linf.: $3,60 \pm 1,70 \times 10^3/\text{mL}$; Eos.: $0,70 \pm 0,70 \times 10^3/\text{mL}$; Mon.: $0,20 \pm 0,20 \times 10^3/\text{mL}$; Bas.: $0,03 \pm 0,05 \times 10^3/\text{mL}$; uréia: $55,00 \pm 18,31$ mg/dL; creatinina: $1,40 \pm 0,31$ mg/dL; PT: $7,60 \pm 0,61$ g/dL; albumina: $3,40 \pm 0,54$ g/dL; ALT: $70,00 \pm 26,51$ U/mL; AST: $49,00 \pm 14,77$ U/mL; ALP: $33,00 \pm 26,49$ U/mL; BT: $0,12 \pm 0,06$ mg/dL; BD: $0,04 \pm 0,03$ mg/dL. Os valores sangüíneos encontrados para cachorros-do-mato foram: Hemácias: $4,80 \pm 0,60$

$\times 10^6/\text{mL}$; Hb: $14,00 \pm 5,64$ g/dL; VG: $42,00 \pm 1,96$ %; VCM: $89,00 \pm 5,90$ fL; HCM: $29,00 \pm 1,35$ pg; CHCM: $33,00 \pm 1,56$ g/dL; Leucócitos: $9,50 \pm 1,35 \times 10^3/\text{mL}$; Neut. segm.: $6,90 \pm 0,88 \times 10^3/\text{mL}$; Neut. bast.: $0,10 \pm 0,11 \times 10^3/\text{mL}$; Linf.: $1,30 \pm 0,42 \times 10^3/\text{mL}$; Eos.: $0,20 \pm 0,07 \times 10^3/\text{mL}$; Mon.: $0,10 \pm 0,06 \times 10^3/\text{mL}$; Bas.: $0 \times 10^3/\text{mL}$; uréia: $44,00 \pm 23,84$ mg/dL; creatinina: $0,90 \pm 0,18$ mg/dL; PT: $7,50 \pm 0,56$ g/dL; albumina: $3,30 \pm 0,31$ g/dL; ALT: $51,0 \pm 17,46$ U/mL; AST: $25,0 \pm 12,81$ U/mL; ALP: $22,0 \pm 4,42$ U/mL; BT: $0,16 \pm 0,06$ mg/dL; BD: $0,06 \pm 0,02$ mg/dL. Os antígenos eritrocitários caninos foram observados nas duas espécies silvestres pesquisadas. A frequência dos grupos sangüíneos caninos, entretanto, variou entre as espécies. No que se refere ao grupo DEA 1, a grande maioria dos cães silvestres foi positiva para o subgrupo 1.2. O antígeno DEA 4 esteve presente em alta frequência nas duas espécies e houve baixa incidência dos outros antígenos eritrocitários caninos, assim como ocorre nos cães domésticos. A semelhança antigênica encontrada para os antígenos de grupo sangüíneo de cães domésticos, lobos-guarás e cachorros-do-mato aproxima estas espécies, sugerindo que tenham evoluído a partir de um ancestral comum (teoria monofilética). Entretanto, serão necessários estudos moleculares para confirmar a presença dos antígenos eritrocitários caninos nas hemácias dos canídeos silvestres.

Palavras-chave: hematologia, bioquímica clínica, grupos sangüíneos, cães, lobo-guará, cachorro-do-mato.

¹ Doutoranda do Curso do Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Clínica Veterinária, FCAV/UNESP – Câmpus de Jaboticabal/SP.

² Professores Doutores do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, FCAV/UNESP – Câmpus de Jaboticabal/SP.

ABSTRACT

The goal of this study was to verify normal blood values and the occurrence of dog erythrocyte antigen (DEA) onto the red cell surface of wild canids, for investigation of phylogenetic relationship between wild and domestic dogs. For this purpose, blood samples from 32 maned wolves and 16 crab eating dogs were obtained, from zoos located in São Carlos-SP, Rio de Janeiro-RJ, São José do Rio Preto-SP, Brasília-DF, Belo Horizonte-MG, Americana-SP and Sorocaba-SP, e also from a conservationist criatory of Brazilian Company of Metallurgy and Mineration (CBMM-Araxá/MG). Obtained blood values for maned wolves were: RBC: $5.50 \pm 0.93 \times 10^6/\text{mL}$; Hb: 13.30 ± 5.69 g/dL; PCV: 41.30 ± 1.83 %; MCV: 75.0 ± 5.84 fL; MCH: 27.00 ± 4.04 pg; MCHC: 32.00 ± 1.15 g/dL; WBC: $14.80 \pm 4.50 \times 10^3/\text{mL}$; Segmented neutrophils: $10.20 \pm 3.50 \times 10^3/\text{mL}$; Bastonets: $0.10 \pm 0.10 \times 10^3/\text{mL}$; Lymphocytes: $3.60 \pm 1.70 \times 10^3/\text{mL}$; Eosinophils: $0.70 \pm 0.70 \times 10^3/\text{mL}$; Monocytes: $0.20 \pm 0.20 \times 10^3/\text{mL}$; Basophils: $0.03 \pm 0.05 \times 10^3/\text{mL}$; Urea: 55.00 ± 18.31 mg/dL; Creatinin: 1.40 ± 0.31 mg/dL; TP: 7.60 ± 0.61 g/dL; Albumin: 3.40 ± 0.54 g/dL; ALT: 70.00 ± 26.51 U/mL; AST: 49.00 ± 14.77 U/mL; ALP: 33.0 ± 26.49 U/mL; TSB: 0.12 ± 0.06 mg/dL; DSB: 0.04 ± 0.03 mg/dL. Obtained blood values for crab eating dogs were: RBC : $4.80 \pm 0.60 \times 10^6/\text{mL}$; Hb: 14.00 ± 5.64 g/dL; PCV: 42.00 ± 1.96 %; MCV: 89.00 ± 5.90 fL; MCH: 29.00 ± 1.35 pg; MCHC: 33.00 ± 1.56 g/dL; WBC: $9.50 \pm 1.35 \times 10^3/\text{mL}$; Segmented neutrophils: $6.90 \pm 0.88 \times 10^3/\text{mL}$; Bastonets: $0.10 \pm 0.11 \times 10^3/\text{mL}$; Lymphocytes: $1.30 \pm 0.42 \times 10^3/\text{mL}$; Eosinophils: $0.20 \pm 0.07 \times 10^3/\text{mL}$; Monocytes: $0.10 \pm 0.06 \times 10^3/\text{mL}$; Basophils: $0 \times 10^3/\text{mL}$; Urea: 44.00 ± 23.84 mg/dL; Creatinin: 0.90 ± 0.18 mg/dL; TP: 7.50 ± 0.56 g/dL; Albumin: 3.30 ± 0.31 g/dL; ALT: 51.00 ± 17.46 U/mL; AST: 25.00 ± 12.81 U/mL; ALP: 22.00 ± 4.42 U/mL; TSB: 0.16 ± 0.06 mg/dL; DSB: 0.06 ± 0.02 mg/dL. Dog erythrocyte antigens were observed in the two wild species, but the prevalence of blood groups has varied: the majority of dogs was positive for DEA 1 and DEA 4, while few were positive for DEA 3, DEA 5 and DEA 7. The antigenic similarity observed may approximate maned wolf, crab eating dog and domestic dog, suggesting that they may have evolved from a common ancestor, likewise the monophyletic theory. Nevertheless, molecular studies are necessary to confirm the antigen's occurrence onto the red cell surface of these wild dogs.

Keywords: hematology, clinical biochemistry, blood groups, dogs, maned wolf, crab eating dog.

INTRODUÇÃO

O lobo guará (*Chrysocyon brachiurus*) é o maior canídeo da América do Sul, chegando a medir 120 cm de altura e 140 cm de comprimento. Tem um porte esguio, destacado pelas pernas compridas. Os pêlos são espessos com tonalidades castanhas e brilhantes, quase avermelhadas. É um animal de hábitos noturnos, muito tímido e solitário, mas não é feroz e só ataca quando acuado e com medo (CARVALHO, 1976). No Brasil, esta espécie vive nos cerrados abertos onde caminha livremente e se alimenta de pequenos animais e de frutas silvestres como a lobeira. Há alguns anos, o lobo-guará podia ser encontrado do Piauí ao Rio Grande do Sul e Mato Grosso, além do Paraguai, Argentina e Bolívia (CARVALHO, 1976). Infelizmente, a espécie encontra-se em franca extinção em decorrência da caça predatória e devastação dos cerrados (CAVINATO, 1999).

O cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) é um animal pequeno que geralmente pesa de 5 a 8 kg e mede cerca de 65 cm de comprimento. Sua cor é predominantemente cinza-amarelada com o dorso, focinho, pescoço e cauda negros. São animais de hábito noturno e solitário, abrigando-se em tocas, fendas e ocos de árvores. Ocupam em média uma área de 60 hectares, vivendo em florestas, campos e matas de galeria que ocorrem em países como Colômbia, Venezuela, Guiana, Suriname, leste do Peru, Bolívia, Paraguai, norte da Argentina e Brasil, com exceção da planície amazônica. Quanto à alimentação são animais onívoros, alimentando-se principalmente de insetos (cupim), caranguejos, pequenos mamíferos, aves e outros animais pequenos, além de ovos de aves e tartarugas, carniça e frutas (RODRIGUES; AURICCHIO, 1994).

Raros são os trabalhos que abordam parâmetros hematológicos e bioquímicos dos canídeos silvestres. Hoehne e Rosenfeld (1953) realizaram um estudo hematológico em quatro exemplares de cachorro-do-mato. Busch (1980) relatou valores hematológicos e bioquímicos de lobos-guarás pertencentes ao Parque Zoológico Nacional de Washington, D.C. Wallace e Boever (1983) apresentaram valores hematológicos de diferentes canídeos silvestres, estabelecidos por diferentes autores. Cavaliero et al. (1989) determinaram os parâmetros hematológicos e bioquímicos séricos de seis lobos-guarás, em condições de cativeiro, pertencentes ao Jardim Zoológico Silvio Hollembach, em Belo Horizonte/MG. Santos (1999) publicou parâmetros hematológicos e bioquímicos séricos de cachorros-do-mato adultos, sendo alguns

mantidos em cativeiro no Criadouro de Animais Silvestres da Itaipu Binacional e outros de vida livre no Parque Nacional do Iguaçu, ambos em Foz do Iguaçu/PR.

A despeito dos numerosos estudos sobre sistemática, as relações entre muitas espécies de canídeos permanece não resolvida. Através do estudo do cariótipo das espécies de canídeos, tem-se tentado reconstruir sua evolução filética e fornecer melhores critérios para a organização taxonômica. Contudo, os canídeos representam uma família de carnívoros incomum, uma vez que seus cariótipos variam consideravelmente em número e morfologia cromossômica (CHIARELLI, 1975; WAYNE et al., 1997).

O estudo de Wayne et al. (1987) apresenta uma árvore filogenética assumindo que um cariótipo canino, semelhante ao do lobo cinza e com alto número diplóide, seria primitivo para o lobo-guará, o cachorro-do-mato e cão doméstico.

Um estudo morfológico apresentado por Tedford et al. (1995) também indica que o lobo-guará, o cachorro-do-mato e o cão doméstico derivem de um ancestral semelhante ao lobo, e apresenta uma árvore filogenética em concordância com os estudos cariotípicos e biomoleculares. Ou seja, que essas três espécies constituem um grupo monofilético e possuem o mesmo padrão de ramificação evolutiva.

A investigação sobre a presença de antígenos eritrocitários de cães domésticos, nas espécies silvestres citadas, pode contribuir para o estudo das relações filogenéticas entre caninos e corroborar as suspeitas de evolução monofilética de cães domésticos, lobos-guarás e cachorros-do-mato.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram obtidas amostras de sangue de 32 lobos-guarás e 16 cachorros-do-mato, pertencentes aos zoológicos de São Carlos-SP, Rio de Janeiro-RJ, São José do Rio Preto-SP, Brasília-DF, Belo Horizonte-MG, Americana-SP e Sorocaba-SP, e também do criadouro conservacionista da Companhia Brasileira de Metalurgia e Mineração (CBMM), localizado em Araxá-MG.

A colheita do sangue dos canídeos silvestres

foi realizada pelo veterinário responsável de cada zoológico, após contenção física dos animais, procedendo-se a punção e a colheita de 5 mL de sangue da veia cefálica, utilizando-se seringas e agulhas descartáveis. Logo após a colheita, confeccionou-se um esfregaço sangüíneo em lâmina de vidro e este foi fixado em álcool absoluto. Em seguida, 1 mL do sangue foi colocado em frasco contendo solução anticoagulante-preservante CPDA-1, destinado às contagens globais do hemograma e à tipagem sangüínea. Os 4 mL restantes foram acondicionados em frascos sem anticoagulante e mantidos em posição inclinada à temperatura ambiente, durante duas horas, visando a separação do soro sangüíneo, o qual foi enviado para as análises bioquímicas. As amostras foram mantidas em refrigeração durante o transporte por correio aéreo (VASP EXPRESS), até chegarem ao Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário "Governador Laudo Natel", FCAV/UNESP, onde foram realizados os exames.

As contagens globais do hemograma foram realizadas em amostras de 1 mL de sangue com anticoagulante CPDA-1, utilizando-se contador automático³. Para a contagem diferencial de leucócitos, os esfregaços sangüíneos foram corados com corante Rosenfeld⁴. As análises bioquímicas foram feitas utilizando-se soro sangüíneo obtido a partir dos 4 mL de sangue sem anticoagulante. Aferiu-se a concentração sérica de proteínas totais e albumina por meio dos métodos de biureto e verde de bromocresol, respectivamente. As atividades das enzimas aspartato aminotransferase e alanina aminotransferase foram determinadas através do método de Reitman e Frankel, e da fosfatase alcalina pelo método de Bowers e McComb modificado. Para tanto, utilizou-se conjunto de reagentes de uso comercial⁵. Os métodos utilizados para a determinação das concentrações de uréia, creatinina, bilirrubina total e direta foram, respectivamente, o método da urease, o método de Lustosa-Basques e o método de Sims-Horn. A bilirrubina indireta foi calculada subtraindo-se a concentração de bilirrubina direta da bilirrubina total. A leitura das amostras foi realizada por meio de espectrofotometria⁶, com luz de comprimento de onda específico para cada constituinte.

³ Contador automático Coulter ACT8.

⁴ Coloração cuja composição contém metanol e corantes May Grunwald e Giensa.

⁵ LABTEST, Belo Horizonte – MG.

⁶ Espectrofotômetro semi-automático LABQUEST.

Embora o número de alíquotas de sangue proveniente dos lobos-guarás tenha sido igual a 32, somente foi possível realizar a análise hematológica dos valores sangüíneos de 29 animais, devido a problemas de conservação que acarretaram hemólise durante o traslado.

As amostras de sangue para tipagem sangüínea foram submetidas a três lavagens consecutivas com 1,5 volume de solução tampão fosfato (PBS), seguidas pela centrifugação a 2.000 rpm, durante três minutos, e preparação da suspensão de hemácias a 4% (80 mL de papa de hemácias diluídas em 2,0 mL de PBS). A tipagem sangüínea foi realizada por meio do teste de aglutinação em tubos, padronizado pelo "The Immunohematology and Serology Laboratory" de Michigan State University (NOVAIS, 1996), empregando-se os reagentes específicos fornecidos pelo referido laboratório e adquiridos mediante importação. A leitura foi realizada utilizando-se o esquema que se segue: negativo (-), uma cruz (+1), duas cruzes (+2), três cruzes (+3) e quatro cruzes (+4), significando, respectivamente, nenhuma reação, vários grumos pequenos em sobrenadante

avermelhado, vários grumos um pouco maiores em sobrenadante ligeiramente avermelhado, um grumo médio e alguns grumos pequenos em sobrenadante quase límpido e um grumo grande em sobrenadante límpido. Somente no caso da tipagem para o grupo DEA 1 (sub-grupos 1.1 e 1.2), nos tubos em que o grau de reação encontrado foi negativo ou +1, submeteu-se à lavagem com PBS, por três vezes consecutivas, e a adição do reagente de Coombs, que consiste em imunoglobulinas (IgG) de coelho anti-IgG de cão, com o objetivo de promover a aglutinação de hemácias sensibilizadas com anticorpos.

RESULTADOS

Foram tipados 32 lobos-guarás, obtendo-se os seguintes resultados: 1 (3%) foi positivo para DEA 1.1; 31 (97%) foram positivos para DEA 1.2 ou DEA 1.3; 24 (75%) foram positivos para DEA 4; 1 (3%) foi positivo para DEA 5 e 7 (22%) foram positivos para DEA 7 (Tabela 1). A freqüência de combinações entre os grupos sangüíneos está descrita na tabela 2.

Tabela 1. Prevalência dos grupos sangüíneos caninos no lote de lobos-guarás (n = 32) (Jaboticabal, 2003).

Grupos sangüíneos	Nº de animais	Porcentagem (%)
DEA 1.1	1	3
DEA 1.2 ou 1.3	31	97
DEA 3	0	0
DEA 4	24	75
DEA 5	1	3
DEA 7	7	22
Total	32	100

Tabela 2. Freqüência de combinações entre grupos sangüíneos caninos no lote de lobos-guarás (n = 32) (Jaboticabal, 2003).

Combinações de grupos sangüíneos	Nº de animais	Porcentagem (%)
DEA 1.2/1.3 e DEA 4	17	53
DEA 1.2/1.3	5	17
DEA 1.2/1.3, DEA 4 e DEA 7	4	12
DEA 1.2/1.3 e DEA 7	2	6
DEA 1.1 e DEA 4	1	3
DEA 4	1	3
DEA 1.2/1.3, DEA 3, DEA 4 e DEA 7	1	3
DEA 1.2/1.3, DEA 4 e DEA 5	1	3
Total	32	100

Foram tipados 16 cachorros-do-mato, obtendo-se os seguintes resultados: 1 (6%) foi positivo para DEA 1.1; 15 (94%) foram positivos para DEA 1.2 ou DEA 1.3; 16 (100%) foram positivos para DEA 4; 3 (19%) foram positivos para DEA 5 e 7 (44%) foram positivos para DEA 7 (Tabela 3). A frequência de combinações entre os grupos sanguíneos está descrita na tabela 4.

Os resultados do hemograma, da determinação das concentrações séricas de proteínas totais, albumina, uréia, creatinina e bilirrubinas, bem como da atividade sérica de aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e fosfatase alcalina (ALP) dos lobos-guarás e cachorros-do-mato encontram-se descritos nas tabelas 5 e 6.

Tabela 3. Prevalência dos grupos sanguíneos no lote de cachorros-do-mato (n = 16) (Jaboticabal, 2003).

Grupos sanguíneos	Nº de animais	Porcentagem (%)
DEA 1.1	1	6
DEA 1.2 ou 1.3	15	94
DEA 3	0	0
DEA 4	16	100
DEA 5	3	19
DEA 7	7	44
Total	16	100

Tabela 4. Frequência de combinações entre grupos sanguíneos caninos no lote de cachorros-do-mato (n = 16) (Jaboticabal, 2003).

Combinações de grupos sanguíneos	Nº de animais	Porcentagem (%)
DEA 1.2/1.3 e DEA 4	8	50
DEA 1.2/1.3, DEA 4 e DEA 7	5	32
DEA 1.2/1.3, DEA 4, DEA 5 e DEA 7	1	6
DEA 1.1, DEA 4 e DEA 5	1	6
DEA 4, DEA 5 e DEA 7	1	6
Total	16	100

Tabela 5. Média e desvio-padrão dos constituintes do hemograma de 29 lobos-guarás (*Chrysocyon brachyurus*) e 16 cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*) (Jaboticabal, 2003).

Parâmetros	Lobo-guará	Cachorros-do-mato
Eritrócitos (x 10 ⁶ /mL)	5,50 ± 0,93	4,80 ± 0,60
Hemoglobina (g/dL)	13,30 ± 5,69	14,00 ± 5,64
Volume globular (%)	41,30 ± 1,83	42,00 ± 1,96
VCM (fL)	75,00 ± 5,84	89,00 ± 5,90
HCM (pg)	27,00 ± 4,040	29,00 ± 1,35
CHCM (%)	32,00 ± 1,15	33,00 ± 1,56
Leucócitos (x 10 ³ /mL)	14,80 ± 4,50	9,50 ± 1,35
Neutrófilos segmentados (x 10 ³ /mL)	10,20 ± 3,50	6,90 ± 0,88
Neutrófilos bastonetes (x 10 ³ /mL)	0,10 ± 0,10	0,10 ± 0,11
Linfócitos (x 10 ³ /mL)	3,60 ± 1,70	1,30 ± 0,42
Eosinófilos (x 10 ³ /mL)	0,70 ± 0,70	0,20 ± 0,07
Monócitos (x 10 ³ /mL)	0,20 ± 0,20	0,10 ± 0,06
Basófilos (x 10 ³ /mL)	0,03 ± 0,05	–

VCM- volume corpuscular médio; HCM- hemoglobina corpuscular média; CHCM- concentração de hemoglobina corpuscular média

Tabela 6. Média e desvio-padrão das concentrações séricas de proteínas totais (PT), albumina, uréia, creatinina e bilirrubinas total (BT), direta (BD) e indireta (BI), bem como da atividade enzimática de aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e fosfatase alcalina (ALP) de 29 lobos-guarás (*Chrysocyon brachyurus*) e 16 cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*) (Jaboticabal, 2003).

Parâmetros	Lobo-guará	Cachorros-do-mato
PT (g/dL)	7,60 ± 0,61	7,50 ± 0,56
Albumina (g/dL)	3,40 ± 0,54	3,30 ± 0,31
ALT (U/mL)	70,00 ± 26,51	51,00 ± 17,46
AST (U/mL)	49,00 ± 14,77	25,00 ± 12,81
ALP (U/mL)	33,00 ± 26,49	22,00 ± 4,42
Uréia (mg/dL)	55,00 ± 18,31	44,00 ± 23,84
Creatinina (mg/dL)	1,40 ± 0,31	0,90 ± 0,18
BT (mg/dL)	0,12 ± 0,06	0,16 ± 0,06
BD (mg/dL)	0,04 ± 0,03	0,06 ± 0,02

DISCUSSÃO

Os resultados da tipagem sangüínea das duas espécies silvestres pesquisadas, utilizando-se os reagentes para antígenos eritrocitários caninos, foram positivos e semelhantes àqueles observados em cães domésticos. A frequência dos grupos sangüíneos caninos, entretanto, variou entre as espécies. No que se refere ao grupo DEA 1, a grande maioria dos cães silvestres foi positiva para o subgrupo DEA 1.2/1.3, enquanto poucos foram positivos para DEA 1.1. Estas frequências se invertem em cães domésticos, dentre os quais há maior prevalência do subgrupo 1.1. Esta simples observação levanta uma questão interessante a respeito do processo evolutivo das espécies doméstica e silvestres estudadas. Por que ocorre esta inversão de frequências? Será que ela representa uma evolução ou um retrocesso? Sabe-se que o processo evolutivo das espécies domésticas não ocorre através da seleção natural, a qual prevalece nas espécies silvestres. A interferência humana criou padrões raciais voltados para características específicas, gerando uma alteração na prevalência dos grupos sangüíneos. Além disso, a consangüinidade dentro das raças de cães domésticos direcionou a ocorrências dos antígenos eritrocitários. Ou seja, os genes de grupos sangüíneos que estavam ausentes nos primeiros representantes de cada raça que chegaram no Brasil, tornaram-se pelo menos temporariamente excluídos do genoma dos descendentes daqueles indivíduos. Conseqüentemente, se a ocorrência de um antígeno já era baixa, tornou-se inexistente.

Por outro lado, nas espécies silvestres, a presença de um antígeno de grupo sangüíneo, como por exemplo o DEA 1.1, pode determinar a não sobrevivência de um filhote de mãe DEA 1 negativa, se ocorrer isoeritrolise neonatal. Neste caso, a mãe previamente sensibilizada produz anticorpos anti-DEA 1.1, os quais são absorvidos pelo filhote através do colostro e provocam a sua morte devido à anemia hemolítica. Este fato poderia nos conduzir a pensar que não seria vantajoso possuir este antígeno eritrocitário, e a própria seleção natural provocaria o seu desaparecimento. Enquanto isso, como os outros alelos do grupo DEA 1 não seriam responsáveis por esse problema, sua ocorrência tenderia a aumentar ao longo do tempo. Esta poderia ser uma explicação para a inversão entre as prevalências dos subgrupos DEA 1.1 e DEA 1.2/1.3, observada nesta pesquisa.

O antígeno DEA 4 esteve presente em alta frequência nas duas espécies e houve baixa incidência dos outros antígenos eritrocitários caninos, assim como ocorre nos cães domésticos.

No que diz respeito às combinações de grupos sangüíneos sobre a superfície dos eritrócitos, DEA 1.2/1.3 e DEA 4 foi a combinação mais freqüente, tanto em lobos-guarás quanto em cachorros-do-mato, representando aproximadamente 50% dos animais. Esta ocorrência possivelmente se deve à maior prevalência desses antígenos nas duas espécies. Além disso, a alta frequência da combinação DEA 1.2/1.3, DEA 4 pode nos indicar que esta seria uma associação favorável para a sobrevivência dessas espécies, uma vez que

ambas foram submetidas ao processo de seleção natural ao longo do tempo.

A partir desses resultados, acredita-se que os antígenos eritrocitários dos cães domésticos estejam presentes sobre as hemácias das espécies silvestres estudadas. O padrão de reatividade, quanto à intensidade das reações de aglutinação foi semelhante e, no que se refere ao grupo DEA 1, as reações inicialmente negativas foram amplificadas através da utilização do teste da antiglobulina de Coombs, apresentando resultado final positivo.

Sabe-se, entretanto, que o resultado positivo da reação sorológica não significa que os antígenos encontrados possam ser exatamente os mesmos, uma vez que os anticorpos policlonais utilizados podem ter se ligado a epítomos diferentes sobre a superfície das hemácias dessas espécies silvestres, os quais poderiam apresentar alguma semelhança antigênica com os grupos sangüíneos dos cães domésticos. Esta dúvida só será elucidada após análise molecular dos antígenos de membrana eritrocitária das espécies silvestres, e comparação com os resultados obtidos para cães domésticos.

Embora os estudos sobre a filogenia dos canídeos sejam altamente controversos, e as relações filéticas entre eles ainda não sejam conclusivas, a semelhança antigênica ou homologia encontrada para os antígenos de grupo sangüíneo de cães domésticos, lobos-guarás e cachorros-domato aproxima estas espécies, sugerindo que tenham evoluído a partir de um ancestral comum (teoria monofilética). A partir daí, é provável que tenha ocorrido o fenômeno de especiação, no qual são formadas novas espécies a partir de segregações gênicas e mutações, as quais ocorrem em grupos diferentes de indivíduos que se tornam isolados por barreiras físicas ou reprodutivas.

Os resultados obtidos sugerem que os genes para grupos sangüíneos são relativamente estáveis, sofrendo pouca alteração ao longo do processo evolutivo. Além disso, a aparente compatibilidade entre grupos sangüíneos, encontrada entre essas três espécies de caninos, merece ser melhor investigada, uma vez que possibilita a realização de transfusão sangüínea empregando-se sangue heterólogo. Esta possibilidade seria de grande ajuda para os clínicos de animais silvestres, pois são freqüentes as mortes causadas por anemia devido ao ectoparasitismo nos indivíduos mantidos em zoológicos.

No que diz respeito aos parâmetros hematólogicos, verifica-se que os valores encontrados para o número de eritrócitos em lobos-guarás adultos se assemelharam àqueles obtidos por Busch (1980),

mas diferiram dos encontrados por Wallace e Boever (1983) e Cavaliero et al. (1989), os quais apresentaram resultados inferiores e superiores, respectivamente. Uma explicação possível pode ter sido o fato dos primeiros autores terem trabalhado com um grupo de lobos-guarás adultos jovens, o que explicaria um número de eritrócitos ligeiramente inferior aos obtidos para animais adultos. Já Cavaliero et al. (1989) trabalharam com coletas seriadas semanais e, durante o período experimental (aproximadamente dois meses), realizaram a desverminação dos animais e o fornecimento de dieta balanceada. É possível que este tratamento possa ter interferido nos resultados causando elevação do número de eritrócitos. Os valores encontrados para hematócrito foram superiores aos descritos por Wallace e Boever (1983) e inferiores aos citados por Busch (1980) e Cavaliero et al. (1989). Como Busch (1980) havia descrito um número de eritrócitos semelhante, a explicação para um hematócrito elevado é dada por um volume corpuscular médio (VCM) superior encontrado. O teor de hemoglobina foi semelhante aos descritos por Busch (1980), Wallace e Boever (1983) e Cavaliero et al. (1989). Quanto aos índices hematimétricos, o valor obtido para o VCM foi semelhante àquele descrito por Cavaliero et al. (1989), porém inferior ao obtido por Busch (1980), como já foi mencionado. Quanto aos demais índices (HCM, CHCM), não houve discrepância entre os resultados obtidos.

Os valores de leucócitos totais obtidos para lobos-guarás foram superiores àqueles descritos por outros autores. Assim como nos cães domésticos, os neutrófilos segmentados apresentaram-se como a variedade leucocitária numericamente mais expressiva, seguida dos linfócitos. Os valores encontrados para neutrófilos segmentados também foram superiores àqueles descritos por outros autores. Uma possível explicação para este aumento pode ter sido o estresse sofrido pelos animais durante a captura, manejo e colheita de sangue, uma vez que não foram utilizados sedativos para contenção química. O número de linfócitos foi semelhante ao descrito por Wallace e Boever (1983), mas superior ao descrito por Busch (1980), e Cavaliero et al. (1989). Os valores encontrados para eosinófilos, monócitos e basófilos não diferiram daqueles citados na literatura. Quando comparados com os valores descritos para cães domésticos, os resultados obtidos para contagem leucocitária de lobos-guarás foram semelhantes entre estas duas espécies.

Os valores encontrados para proteínas totais e albumina foram semelhantes aos descritos por Busch (1980) e Cavaliero et al. (1989). As

atividades de ALT, AST e ALP também corroboram com aquelas já descritas, bem como os níveis de uréia, creatinina e bilirrubinas total e indireta. Não foi encontrado, na literatura consultada, valor referente à bilirrubina direta. Os resultados obtidos para bioquímica clínica de lobos-guarás assemelharam-se àqueles descritos para cães domésticos, mas foram superiores àqueles descritos para cachorros-do-mato.

No que diz respeito aos cachorros-do-mato, os valores encontrados para o número de eritrócitos foram compatíveis àqueles obtidos por Hoehne e Rosenfeld (1953) e Santos (1999), mas diferiram dos encontrados por Wallace e Boever (1983), os quais apresentaram resultados superiores. Os valores encontrados para hematócrito foram semelhantes àqueles descritos por Santos (1999), mas superiores aos descritos por Wallace e Boever (1983) e inferiores aos citados por Hoehne e Rosenfeld (1953). A explicação para estas diferenças residiu no valor encontrado para VCM, o qual foi inferior àquele obtido por Hoehne e Rosenfeld (1953), mas semelhante ao citado por Santos (1999), uma vez que este índice hematimétrico é obtido em função dos valores de hematócrito e número de eritrócitos. O teor de hemoglobina foi semelhante ao encontrado por Santos (1999), mas ligeiramente superior aos valores encontrados por Hoehne e Rosenfeld (1953) e Wallace e Boever (1983). Quanto aos demais índices (HCM, CHCM), não houve discrepância entre os resultados obtidos nesse estudo e aqueles de Santos (1999). Contudo, em conformidade com o valor obtido para teor de hemoglobina, Hoehne e Rosenfeld (1953) também obtiveram HCM inferior. É interessante notar que o volume corpuscular médio dessa espécie é superior ao dos cães domésticos e lobos-guarás, os quais apresentam VCM semelhante entre si. Esta parece ser a única diferença marcante no eritrograma entre as três espécies de canídeos estudadas.

O valor obtido para leucócitos totais em cachorros-do-mato foi ligeiramente superior àqueles descritos por Hoehne e Rosenfeld (1953) e Wallace e Boever (1983), mas ligeiramente inferior ao referido por Santos (1999). Assim como nos cães domésticos e lobos-guarás, os neutrófilos segmentados apresentaram-se como a variedade leucocitária numericamente mais expressiva, seguida dos linfócitos. Os valores encontrados para neutrófilos segmentados foram semelhantes aos valores descritos por Santos (1999), mas superiores àqueles descritos por Hoehne e Rosenfeld (1953) e Wallace e Boever (1983). Os valores obtidos para linfócitos foram ligeiramente inferiores aos descritos pelos outros

autores. O valor encontrado para eosinófilos foi inferior ao descrito por Hoehne e Rosenfeld (1953) e Santos (1999), mas superior ao encontrado por Wallace e Boever (1983). Quanto aos monócitos, Hoehne e Rosenfeld (1953) descreveram número superior, mas os valores encontrados por Wallace e Boever (1983) e Santos (1999) foram semelhantes. O número de basófilos não diferiu daquele descrito na literatura. Pode-se observar que os valores obtidos para leucócitos totais, neutrófilos segmentados e linfócitos no cachorro-do-mato foram inferiores àqueles descritos para lobos-guarás e cães domésticos, mas a relação neutrófilo/linfócito permaneceu semelhante, variando de 2:1 até 4:1 nas três espécies. A explicação para a contagem leucocitária inferior pode ser um menor grau de estresse sofrido por esta espécie, devido ao procedimento de captura e colheita de sangue, quando comparados aos lobos-guarás.

Os valores encontrados para proteínas totais e albumina foram semelhantes aos descritos por Santos (1999). As atividades de ALT, AST variaram ligeiramente, enquanto os níveis de uréia e creatinina se assemelharam àqueles descritos pelo mesmo autor. Não foi encontrada na literatura consultada valor referente à atividade de ALP e teores de bilirrubina total e frações. Verificou-se que os resultados de bioquímica clínica obtidos em cachorros-do-mato foram ligeiramente inferiores àqueles observados em lobos-guarás e cães domésticos.

CONCLUSÕES

1. Os resultados da tipagem sangüínea das duas espécies silvestres pesquisadas, utilizando-se os reagentes para antígenos eritrocitários caninos, foram positivos e semelhantes àqueles observados em cães domésticos. A frequência dos grupos sangüíneos caninos, entretanto, variou entre as espécies.
2. Embora os estudos sobre a filogenia dos canídeos sejam altamente controversos e as relações filéticas entre eles ainda não sejam conclusivas, a semelhança antigênica ou homologia, encontrada para os antígenos de grupo sangüíneo de cães domésticos, lobos-guarás e cachorros-do-mato, aproxima estas espécies, sugerindo que tenham evoluído a partir de um ancestral comum (teoria monofilética).
3. Os resultados obtidos sugerem que os genes para grupos sangüíneos são relativamente estáveis, sofrendo pouca alteração ao longo do processo evolutivo.

4. A aparente compatibilidade entre grupos sanguíneos encontrada entre essas três espécies de caninos merece ser melhor investigada, uma vez que possibilita a realização de transfusão sanguínea empregando-se sangue heterólogo.
5. O volume corpuscular médio de cachorros-domato é superior ao do lobo-guará, o qual apresenta VCM semelhante ao do cão doméstico.
6. Assim como nos cães domésticos, os neutrófilos segmentados apresentaram-se como a variedade leucocitária numericamente mais expressiva, seguida dos linfócitos, tanto em lobos-guarás como em cachorros-domato.
7. Os valores obtidos para leucócitos totais, neutrófilos segmentados e linfócitos em cachorros-domato são inferiores àqueles descritos para lobos-guarás, mas a relação neutrófilo/linfócito permanece semelhante, variando de 2:1 até 4:1 nas duas espécies.
8. Verificou-se que os resultados de bioquímica clínica obtidos em cachorros-domato foram ligeiramente inferiores àqueles observados em lobos-guarás e cães domésticos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BUSCH, H. Medical management of maned wolves (*Chrysocyon brachyurus*). In: AMERICAN ASSOCIATION OF ZOOVETERINARIANS. **Proceeding**, p. 132-134, 1980.
- CARVALHO, C. T. Aspectos faunísticos do cerrado – o lobo guará. **Boletim Técnico I.F.**, São Paulo, v. 21, p. 1-18, 1976.
- CAVALIERO, I. C. et al. Valores hematológicos, bioquímicos do soro e temperatura interna de lobos guarás (*Chrysocyon brachyurus*). **Ars Veterinaria**, Jaboticabal, v. 5, n. 1, p. 25-32, 1989.
- CAVINATO, M. L. **Espécies ameaçadas: guia prático**. São Paulo: Ed. Nobel S.A, 1999, 64p.
- CHIARELLI, A. B. The chromosomes of the canidae. In: FOX, M. W. (Ed.). **The Wild Canids**. New York: Van Nostrand Reinhold, p. 40-53, 1975.
- HOEHNE, L., ROSENFELD, G. Estudos de hematologia comparada. II. Dados hematológicos do cachorro-domato (*Cerdocyon thous azarae*). **Mem. do Instituto Butantan**, v. 25, n. 2, p. 55-57, 1953.
- NOVAIS, A. A. **Prevalência do grupo sanguíneo DEA 1 (subgrupos 1.1 e 1.2) em cães (*Canis familiaris*) (Linnaeus, 1758)**. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – FCAV/UNESP, Jaboticabal, 1996, 62 p.
- RODRIGUES, A. S. M., AURICCHIO, P. Canídeos do Brasil. **Coleção Terra Brasilis. Série zoologia – Zoo II. Mamíferos do Brasil**. Arujá: Terra Brasilis, 1994, 13 p.
- SANTOS, L.C. **Laboratório Ambiental**. Cascavel: Edunioeste, 1999, 341 p.
- TEDFORD, R.H., TAYLOR, B.E., WANG, X. Phylogeny of the caninae (Carnivora:Canidae): the living taxa. **American Museum Novitates**, New York, n. 3146, p. 1-37, 1995.
- WALLACE, J. D., BOEVER, W. J. Canids. In: _____. **Diseases of exotic animals – medical and surgical management**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1983, p. 409.
- WAYNE, R.K., NASH, W.G., O'BRIEN, S.J. Chromosomal evolution of the canidae I. Species with high diploid numbers. **Cytogenet. Cell Genet.**, Basel, v. 44, p. 123-133, 1987.
- WAYNE, R.K. et al. Molecular systematics of the canidae. **Syst. Biol.**, v. 46, n. 4, p. 622-653, 1997.