

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
COMPORTAMENTO E BIOLOGIA ANIMAL**

**PADRÃO HEMATOLÓGICO DE FÊMEAS DE *Callithrix penicillata* ÉTIENNE
GEOFFROY, 1812 (PRIMATES: CEBIDAE)**

Glauber Thiago Martins Barino

Juiz de Fora, Minas Gerais

2008

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
COMPORTAMENTO E BIOLOGIA ANIMAL**

**PADRÃO HEMATOLÓGICO DE FÊMEAS DE *Callithrix penicillata* ÉTIENNE
GEOFFROY, 1812 (PRIMATES: CEBIDAE)**

Glauber Thiago Martins Barino

Orientadora: Profa. Dra. Vera Maria Peters

Dissertação apresentada ao Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Juiz de Fora, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Área de concentração: Comportamento e Biologia Animal).

Juiz de Fora, Minas Gerais

Fevereiro de 2008

Dedico esse trabalho a todos aqueles
que me apoiaram para a sua conclusão.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas – Comportamento e Biologia Animal pela oportunidade de realização deste trabalho e pelo apoio dado ao mesmo.

À Professora e orientadora Vera Maria Peters pela confiança no meu trabalho, pela disponibilidade dos animais do Centro de Biologia da Reprodução e pelos conselhos não só sobre a dissertação, mas também de vida em todas as fases do estudo e pela contribuição na minha formação profissional.

Aos meus amigos José Carlos, João Carlos e Paulo César pela grande contribuição nas longas horas de coleta dos dados no biotério.

As técnicas Rosimar Rodrigues de Azevedo e Daniela Guimarães pela ajuda nas análises laboratoriais que não foram poucas.

À Professora Martha de Oliveira Guerra pela ajuda constante no decorrer do trabalho, com a leitura minuciosa e a estatística atenciosa.

A todos os professores, mestrandos, doutorandos, estagiários, técnicos e funcionários do Centro de Biologia da Reprodução por toda dedicação e pela contribuição para minha formação e pelas sugestões que engrandeceram a dissertação.

Aos membros da banca Prof. Gilcélio Amaral da Silveira e Prof. Artur Andriolo pelo aceite da participação na mesma e, principalmente, pelos créditos concedidos para a complementação e adequação do trabalho à publicação.

À minha mãe Alice pela preocupação com o filho que está tão longe e a minha madrinha Marly, uma verdadeira segunda mãe, ambas desejosas de que minha formação profissional seja também um aprendizado de vida.

Ao amigo Renato que sempre disponibilizou sua casa, seu computador, seu carro e tudo o mais que fosse necessário para o trabalho ser bem feito.

A minha turma de graduação que sempre me apoiou a continuar nos estudos e me auxiliou durante essa dissertação.

Aos amigos de perto e de longe pelos momentos de conforto e descontração.

“À medida que o conhecimento biológico cresça, a ética mudará fundamentalmente para que em todos os lugares, a fauna e a flora de um país sejam consideradas uma parte da herança nacional tão importante quanto sua arte, seu idioma e aquela estonteante mistura de conquistas e farsa que sempre definiram nossa espécie.”

E. O. Wilson (1984)

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	x
LISTA DE FIGURAS E GRÁFICOS.....	xi
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xiv
RESUMO.....	xv
ABSTRACT.....	xvii
1 - INTRODUÇÃO.....	1
2 - REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1 - Modelos biológicos nas pesquisas científicas	3
2.2. Os sagüis-de-tufos-pretos, <i>Callithrix penicillata</i> Étienne Geoffroy, 1812	5
2.3. O sistema circulatório e o estudo da hematologia nos primatas.....	8
3 - MATERIAL E MÉTODOS	13
3.1 - Área de estudo	13
3.2 - Condições ambientais e de criação	16
3.3 - Seleção dos animais	17

3.4 - Procedimentos com os animais	19
3.5 - Processamento das amostras, leitura e interpretação do sangue	20
3.6 - Análise dos dados	24
3.7 - Princípios éticos	25
4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
4.1 - Hematologia das fêmeas não-gestantes.....	26
4.2 - Hematologia das fêmeas no período gestacional	29
4.3 - Hematologia das fêmeas no período lactacional	35
4.4 Comparação dos hemogramas durante os períodos estudados	41
5 - CONCLUSÕES.....	48
6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49
7 - APÊNDICES.....	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Mensurações quantitativas dos elementos do sangue, suas medidas e significados.....	9
Tabela 2 -	Descrição da amostra de <i>Callithrix penicillata</i> selecionados para a pesquisa de padrões hematológicos.....	18
Tabela 3 -	Tamanho e composição das famílias de sagüis com gestações anteriores ao presente estudo	19
Tabela 4 -	Valores hematológicos de fêmeas e machos de <i>Callithrix penicillata</i> comparativamente aos relatos da literatura	27
Tabela 5 -	Valores da contagem diferencial de leucócitos de fêmeas de <i>Callithrix penicillata</i> durante o período gestacional	34
Tabela 6 -	Valores da contagem diferencial de leucócitos de fêmeas de <i>Callithrix penicillata</i> durante o período lactacional.....	40

LISTA DE FIGURAS E GRÁFICOS

Figura 1 -	Árvore filogenética da espécie <i>Callithrix penicillata</i>	5
Figura 2 -	Mapa indicativo da presença dos sagüis <i>Callithrix penicillata</i> no território brasileiro	6
Figura 3 -	Localização da cidade de Juiz de Fora e do Centro de Biologia da Reprodução no estado de Minas Gerais, Brasil	15
Figura 4 -	Neutrófilo segmentado	22
Figura 5 -	Neutrófilo bastonete	22
Figura 6 -	Eosinófilo	23
Figura 7 -	Basófilo	23
Figura 8 -	Linfócito	23
Figura 9 -	Monócito	24
Figura 10 -	Lâmina hematológica de uma fêmea de <i>C. penicillata</i>	29
Gráfico 1 -	Valores semanais da hematimetria das fêmeas gestantes de <i>Callithrix penicillata</i>	30
Gráfico 2 -	Valores semanais da hemoglobina das fêmeas gestantes de <i>Callithrix penicillata</i>	30

Gráfico 3 -	Valores semanais do hematócrito das fêmeas gestantes de <i>Callithrix penicillata</i>	31
Gráfico 4 -	Valores semanais da leucometria global das fêmeas gestantes de <i>Callithrix penicillata</i>	31
Gráfico 5 -	Valores semanais do VCM das fêmeas gestantes de <i>C. penicillata</i>	32
Gráfico 6 -	Valores semanais do HCM das fêmeas gestantes de <i>C. penicillata</i>	32
Gráfico 7 -	Valores semanais do CHCM das fêmeas gestantes de <i>C. penicillata</i>	33
Gráfico 8 -	Valores semanais da hematimetria das fêmeas lactantes de <i>Callithrix penicillata</i>	35
Gráfico 9 -	Valores semanais da hemoglobina das fêmeas lactantes de <i>Callithrix penicillata</i>	36
Gráfico 10 -	Valores semanais do hematócrito das fêmeas lactantes de <i>Callithrix penicillata</i>	36
Gráfico 11 -	Valores semanais da leucometria global das fêmeas lactantes de <i>Callithrix penicillata</i>	37
Gráfico 12 -	Valores semanais do VCM das fêmeas lactantes de <i>C. penicillata</i>	37
Gráfico 13 -	Valores semanais do HCM das fêmeas lactantes de <i>C. penicillata</i>	38
Gráfico 14 -	Valores semanais do CHCM das fêmeas lactantes de <i>C. penicillata</i>	38
Gráfico 15 -	Comparação entre os valores da hematimetria entre os grupos não-gestante, gestante e lactante	41
Gráfico 16 -	Comparação entre os valores da hemoglobina entre os grupos não-gestante, gestante e lactante	42
Gráfico 17 -	Comparação entre os valores do hematócrito entre os grupos não-gestante, gestante e lactante	42
Gráfico 18 -	Comparação entre os valores da leucometria global entre os grupos não-gestante, gestante e lactante	44
Gráfico 19 -	Comparação entre os valores do VCM entre os grupos não-gestante, gestante e lactante	45
Gráfico 20 -	Comparação entre os valores do HCM entre os grupos não-gestante, gestante e lactante	45

- Gráfico 21** - Comparação entre os valores do CHCM entre os grupos não-gestante, gestante e lactante 46
- Gráfico 22** - Comparação entre os valores da contagem diferencial de leucócitos entre os grupos não-gestante, gestante e lactante 47

LISTA DE ABREVIATURAS

UFJF - Universidade Federal de Juiz de Fora

CBR - Centro de Biologia da Reprodução

VCM - Volume Corpuscular Médio

HCM - Hemoglobina Corpuscular Média

CHCM - Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média

cm - Centímetros

mm - Milímetros

dL - Decilitro

fL - Fentolitro

g - Gramas

μL - Microlitro

μm - Micrômetro

RESUMO

Animais de diversas espécies são utilizados na pesquisa científica como modelos biológicos. Entre os primatas não-humanos encontram-se os sagüis, indivíduos pertencentes à subfamília Callitrichinae, no qual se incluem os sagüis-de-tufos-pretos (*Callithrix penicillata*). Esses primatas são nativos do Brasil e vêm sendo criados em diversos biotérios do país. Para o seu uso como modelo biológico, faz-se necessário o estudo dos seus sistemas fisiológicos, no qual se inclui o sistema sangüíneo. Para o entendimento desse sistema, alguns testes são realizados no intuito de estabelecer o padrão hematológico dos animais para cada ambiente em que eles estão presentes, uma vez que diferentes ambientes podem provocar alterações nos parâmetros sangüíneos. Buscando estabelecer uma padronização hematológica das fêmeas dos sagüis da colônia do Centro de Biologia da Reprodução da Universidade Federal de Juiz de Fora, o presente trabalho selecionou 11 fêmeas de *C. penicillata* dessa colônia. Dos animais selecionados foram retiradas amostras sangüíneas semanais através de punção da veia femoral. O sangue coletado passou por procedimentos padrões de análise hematológica, sendo os seguintes parâmetros hematológicos aferidos: hematimetria, hemoglobimetria, hematócrito, leucometria global, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e leucometria específica (contagem das seguintes células: linfócitos, neutrófilos segmentados, neutrófilos bastonetes, monócitos, eosinófilos e basófilos). No decorrer do trabalho seis fêmeas entraram em gestação, sendo que as mesmas foram acompanhadas durante todo o processo gestacional

e lactacional, quando este último ocorreu. A estatística efetuada no trabalho foi realizada através do teste ANOVA com posterior Dunnet para verificar diferenças entre as variáveis hematológicas das fêmeas não-gestantes, gestantes e lactantes. Utilizou-se também estatística descritiva para todas as variáveis hematológicas. O nível de significância estabelecido foi de $\alpha \leq 0,05$. Após uma análise comparativa com os estudos disponíveis na literatura sobre hematologia de *C. penicillata* fora dos períodos gestacional e lactacional, verificou-se que dos parâmetros hematológicos abordados, os valores da hematimetria, do hematócrito e dos índices hematimétricos VCM, HCM e CHCM desse trabalho apresentaram diferença significativa em relação aos trabalhos encontrados na literatura, que foram realizados em outras regiões geográficas e/ou utilizando de diferentes metodologias. As análises durante o período gestacional demonstraram ausência de diferença significativa nos parâmetros hematológicos abordados entre as semanas. O mesmo ocorreu durante o período lactacional. Realizando uma comparação entre os períodos de não-gestação, gestação e lactação, verificou-se diferença significativa nos valores hematológicos dos parâmetros hematimetria, hemoglobinometria e hematócrito entre o período gestacional e não-gestacional; e diferença no índice CHCM entre o período gestacional e lactacional. As diferenças encontradas são justificadas pela preparação do organismo materno à gestação, como a ocorrência do aumento da massa eritrocitária e da hemodiluição, sendo que a hemodiluição é mais expressiva que o aumento eritrocitário, o que provoca uma pseudoanemia ao se realizar as contagens hematológicas, devido ao aumento de líquido circulante para garantir o suporte de oxigênio e nutrientes ao feto. Assim, a diferença nos valores para gestantes e lactantes não corresponde a uma anemia verdadeira, e sim a uma “anemia fisiológica” que na verdade não apresenta diminuição nas células sangüíneas, apenas um aumento do volume sangüíneo pelo aumento da quantidade de plasma circulante. A diferença encontrada no índice CHCM também é decorrente da hemodiluição, uma vez que o cálculo eletrônico desse índice utiliza os valores de HCM e VCM, determinados pela hematimetria, hemoglobinometria e hematócrito, que sofreram alterações significativas. Os valores encontrados para a leucometria global, VCM e HCM não diferiram entre os períodos estudados.

Palavras-chave: *Callitrix penicillata*; sagüis-de-tufos-pretos; hematologia; gestação; lactação.

ABSTRACT

Animals of different species are used in scientific research as biological models. Among the non-human primates are the marmosets, individuals belonging to the subfamily Callitrichinae, which includes the black-tufted-ear marmoset (*Callithrix penicillata*). This is primate native of Brazil and has been breeding in several centers of research this country. For its use as a model biological, it is necessary to study their physiological systems, which includes the blood system. To the understanding of this system, some tests are conducted in order to establish the standard blood of the animals for each environment where they are present, since different environments can cause changes in blood parameters. Seeking to establish a standardization haematological of females the marmosets of the colony the Centro de Biologia da Reprodução, Universidade Federal de Juiz de Fora, the present study selected 11 females of *C. penicillata* this colony. Of the animals selected blood samples were taken weekly puncture through the femoral vein. The blood collected went through the standard procedures hematological analysis, and the following haematological parameters measured: erythrocyte count, hemoglobin, hematocrit, leucocyte count, mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) and leucocyte specific (counting of the cells: lymphocytes, neutrophils, monocytes, eosinophils and basophils). During the work six females entered into pregnancy, and that they were accompanied throughout the pregnancy and lactation, when this last occurred. The statistics made in the work was done through the ANOVA test with subsequent Dunnet to see differences between variables hematologic of females non-pregnant, pregnant and lactating. It

was used also descriptive statistics for all variables hematologic. The significance level was set $\alpha \leq 0.05$. After a comparative analysis with the available studies in the literature on hematology, *C. penicillata* outside lactation and pregnancy periods, it was found that addressed haematological parameters, the values of erythrocyte count, hematocrit and indexes MCV, MCH and MCHC this work showed significant differences with regard to the work in the literature, which were made in other geographic regions and/or use of different methodologies. Analyses during pregnancy showed no significant difference in haematological parameters discussed between weeks. The same occurred during the lactation period. Conducting a comparison between the periods of non-pregnancy, pregnancy and lactation, there was a significant difference in the values of hematological parameters erythrocyte count, hemoglobin and hematocrit between the pregnancy period and non-pregnancy, and the index MCHC difference between the pregnancy and lactation period. The differences are justified by the preparation of the body maternal pregnancy, as the occurrence of increased erythrocyte mass and haemodilution, and the haemodilution is more expressive that the increase erythrocyte mass, which causes a pseudoanemia to carry out the counts hematologic because the increase of liquid stock to secure the support of oxygen and nutrients to the fetus. Thus, the difference in values for pregnant and lactating does not correspond to a real anemia, but to a "physiologic anemia" which in fact does not present decrease in blood cell, only an increase in blood volume by increasing the quantity of circulating plasma. The difference found in the index MCHC is also due to haemodilution, since the electronic calculation of this index uses the values of MCH and MCV, determined by erythrocyte count, hemoglobin and hematocrit, which suffered significant changes. The values found for the leucocyte count, MCV and MCH did not differ between the periods studied.

Key-words: *Callitrix penicillata*; black-tufted-ear marmoset; hematology; pregnancy; lactation.

1. INTRODUÇÃO

A pesquisa com animais de experimentação vem sendo realizada em nosso país há muitos anos, assim como ocorre em todo o mundo. A utilização de animais nos trabalhos experimentais de pesquisa científica é de fundamental importância, não só pelos avanços no conhecimento dos mecanismos dos processos vitais, mas também no aperfeiçoamento dos métodos de prevenção, diagnóstico e tratamento de doenças, além de servirem para a avaliação de drogas potencialmente tóxicas.

Os animais de várias espécies têm sido utilizados como modelos biológicos nas pesquisas científicas, e entre eles destacam-se os primatas não-humanos que apresentam à proximidade evolutiva e características filogenéticas com o homem. Os primatas do gênero *Callithrix* Erxleben, 1777, constam na lista dos mais utilizados, pois são animais de baixo peso e estatura, reduzido consumo alimentar, alta prolificidade e de um modo geral, se adaptam com facilidade às condições adversas do seu ambiente natural.

Entre as espécies desse gênero, o *Callithrix penicillata* É. Geoffroy, 1812, primata arborícola nativo do Brasil, tem sido um modelo animal em muitos trabalhos científicos, sendo necessário conhecer seus padrões biológicos e comportamentais para que os estudos realizados com esses animais possam ser validados.

Na literatura são encontrados dados fisiológicos e comportamentais já estabelecidos sobre os primatas, porém muitas vezes conflitantes, em função dos estudos serem de indivíduos que são criados em diferentes formas de ambientes. Esta variação é decorrente do fato dos organismos sofrerem uma adaptação para cada tipo de ambiente. Sendo, portanto, possíveis de apresentarem diferenças fisiológicas entre espécies iguais que vivem em regiões

geográficas diferentes, e até em uma mesma região, quando comparamos as diferenças existentes entre os criatórios internos e externos. Há necessidade, portanto não só de estudarmos os diferentes parâmetros fisiológicos das espécies, mas também do grupo de animais destinado à pesquisa, de forma a determinar sua padronização biológica.

Um dos padrões utilizados nos experimentos científicos é o hematológico. Através do hemograma, determinamos as variações quantitativas e morfológicas dos elementos do sangue. Através do hemograma, obtemos dados referentes a quantidade de hemácias, hemoglobina, leucócitos, plaquetas, entre outros componentes presentes no sistema circulatório.

O sistema circulatório é o que atende as necessidades de transporte de nutrientes até as células. Através dele, o sangue não só coleta e entrega nutrientes, mas também é responsável por grande parte da proteção necessária para resistir aos agentes “invasores”. Os níveis de dezenas de substâncias no sangue podem permanecer constantes ainda que as quantidades absolutas que se fazem necessárias ou que são produzidas possam mudar. Essa mudança ocorre devido às alterações do meio interno, como necessidades hormonais, sais minerais, água e outras substâncias cruciais.

Os estudos hematológicos dos animais de laboratório de diferentes espécies são necessários uma vez que cada uma delas possui mecanismos próprios do controle de sua fisiologia, relacionados ao sexo, idade, dieta, manuseio, período reprodutivo (incluindo fase gestacional e lactacional), meio ambiente, entre outros. Conhecendo esses dados, juntamente com a determinação dos parâmetros fisiológicos, observações clínicas e comportamentais, podemos traçar o perfil dos indivíduos de uma dada colônia, atestando as condições de saúde e bem estar de forma a obtermos resultados científicos consistentes.

Visando ampliar os estudos de padronização biológica dos sagüis da colônia do biotério do Centro de Biologia da Reprodução/Universidade Federal de Juiz de Fora, o presente trabalho foi planejado de forma a estabelecer o padrão de variação quantitativa e qualitativa dos elementos sangüíneos de fêmeas de *Callithrix penicillata*, em período não gestacional, gestacional e lactacional.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Modelos biológicos nas pesquisas científicas

A interação entre homens e animais sempre esteve presente na história da humanidade, seja através da alimentação como forma de sobrevivência, até os dias atuais, em que, entre outras formas de utilização e interação homem-animal, têm-se a experimentação animal. Sob o ponto de vista das ciências biomédicas os animais representam um elo importante entre as pretensões científicas e as conquistas de fato.

Segundo PAIXÃO (2007), as diferentes formas de utilização de animais que se enquadram na área da experimentação se incluem nas seguintes categorias:

1) Pesquisa básica: refere-se à formulação e testagem de hipóteses sobre questões teóricas fundamentais, sejam elas de cunho biológico, psicológico ou comportamental;

2) Pesquisa aplicada: formulação e testes de hipóteses sobre doenças, disfunções, defeitos genéticos, etc., as quais se não tem necessariamente conseqüências imediatas para o tratamento de doenças, são pelo menos vistas como diretamente relacionadas a essas conseqüências;

3) Desenvolvimento de drogas terapêuticas, com o objetivo de se encontrar uma substância específica para um determinado propósito;

4) Pesquisas voltadas para o aumento da produtividade e eficiência dos animais na prática agropecuária, através de ensaios alimentares, estudos de metabolismo, estudos na área de reprodução, desenvolvimento de agentes que visam ao aumento da produção;

5) Testes de várias substâncias quanto à sua segurança, potencial de irritação e grau de toxicidade. Dentre essas substâncias incluem-se cosméticos, aditivos alimentares, herbicidas, pesticidas, químicos industriais e drogas;

6) Uso de animais em instituições educacionais para demonstrações, dissecação, treinamento cirúrgico, indução de distúrbios com finalidades demonstrativas, projetos científicos relacionados ao ensino;

7) Uso de animais para extração de drogas e produtos biológicos, tais como vacinas, sangue, soro, anticorpos monoclonais e proteínas de animais geneticamente modificados para produzi-las.

Para a realização desses estudos experimentais diversos animais são utilizados como modelos biológicos, entre os quais se destacam os camundongos, ratos, coelhos, cobaias e primatas não-humanos, principalmente os macacos do Novo Mundo (Infraordem Platyrrhini), como os da Família Cebidae, que incluem os macacos-prego e os sagüis.

Especificamente, os sagüis têm sido utilizados como modelos experimentais em diferentes pesquisas, entre elas as que envolvem estudos com toxicidades (HERNÁNDEZ-LÓPEZ *et al.*, 2005), bacterioses (MELLO *et al.*, 2005), parasitoses (ROSA *et al.*, 2006), viroses (MÄTZ-RENSING *et al.*, 2003), variabilidades hormonais (MOTA *et al.*, 2006) e estudos comportamentais (BURKART & HESCHL, 2007). A utilização dos sagüis da espécie *Callithrix penicillata* Étienne Geoffroy, 1812, para fins de pesquisa científica ainda é pontual e restrita a poucos criatórios no mundo.

Dentre as características que fazem com que os sagüis sejam bons modelos biológicos destaca-se a maior facilidade na manutenção e reprodução em cativeiro quando comparados com os grandes primatas, com boa adaptação aos diferentes ambientes das colônias (HIBINO *et al.*, 1999). Além disso, os sagüis possuem pequeno porte e baixo peso, o que dispensa a necessidade de grandes áreas físicas para a criação (CARVALHO *et al.*, 1991); baixo consumo alimentar e duas gestações ao ano, com média de dois filhotes por gestação (BARINO *et al.*, 2007), o que representa uma taxa de natalidade maior à encontrada para os grandes primatas. VILELA & FARIA (2004) acrescentam a esses dados a inexistência de característica no repertório comportamental dos *C. penicillata* que se mostre afetada pelas ações antrópicas.

Vale ressaltar que entre os mamíferos utilizados nas pesquisas, os primatas não-humanos são os que possuem maior proximidade evolucionária com os humanos, o que

permite concluir que os mesmos são modelos biológicos satisfatórios para que os resultados dos testes possam ser correlacionados com os esperados para os seres humanos.

2.2 Os sagüis-de-tufos-pretos, *Callithrix penicillata* Étienne Geoffroy, 1812

A ordem Primates está inserida na Classe Mammalia e agrupa os animais conhecidos popularmente como macacos ou primatas. Dentro dessa ordem encontra-se o homem, considerado primata humano, e os outros macacos, considerados primatas não-humanos. Entre os primatas não-humanos, temos os representantes da Família Cebidae, que é dividida em três subfamílias: Cebinae, Saimirinae e Callitrichinae. Essa última subfamília possui seis gêneros que incluem os sagüis, como o *C. penicillata*, os micos e os tamarins (BICCA-MARQUES *et al.*, 2006). Um esquema da classificação filogenética da espécie *C. penicillata* pode ser visto na Figura 1.

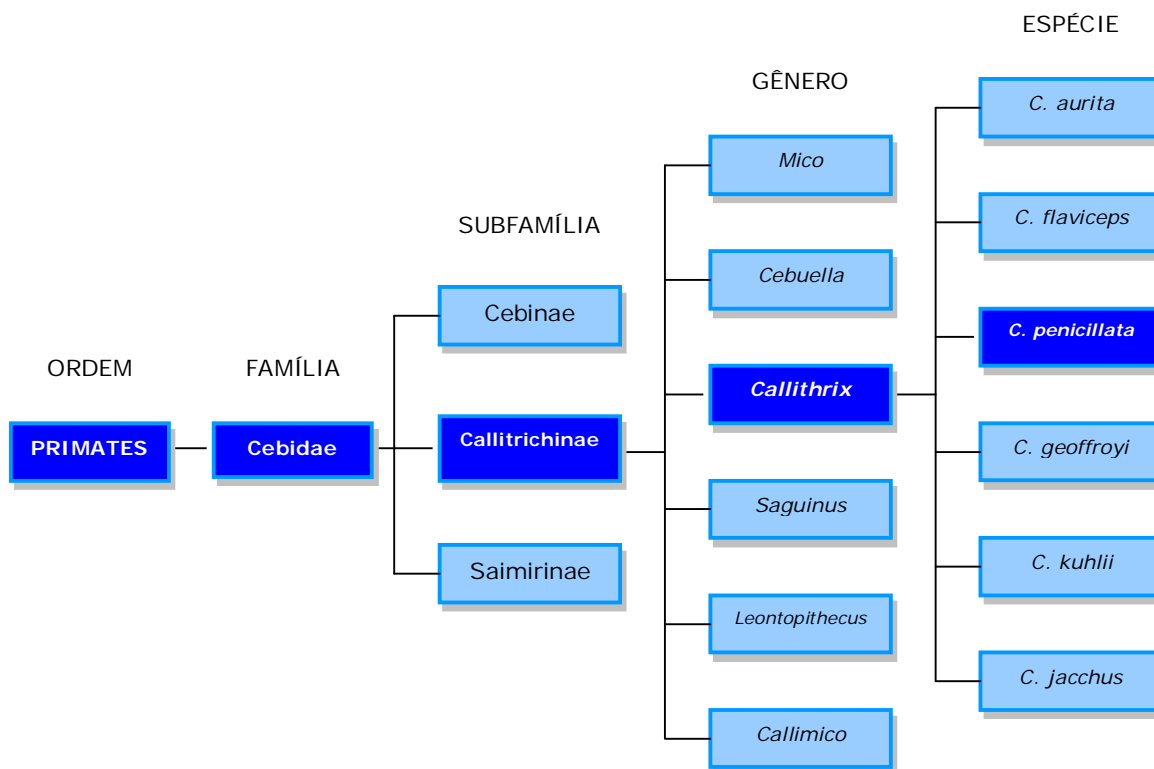


Figura 1. Árvore filogenética da espécie *Callithrix penicillata*. Fonte: BICCA-MARQUES *et al.*, 2006.

Os sagüis possuem por característica do gênero *Callithrix* tufos de pêlos auriculares e uma mancha branca na testa, com exceção de *Callithrix geoffroyi* Humboldt, 1812, que possui a face toda branca (STEVENSON & RYLANDS, 1988). O *C. penicillata* possui tufos pré-auriculares de cor negra em forma de pincel, o que corresponde à principal característica morfológica que o difere das outras espécies desse gênero, e lhe dá o nome popular de sagüi-de-tufos-pretos ou mico-estrela (STEVENSON & RYLANDS, 1988; VIVO, 1991).

Esse sagüi está entre os menores primatas do mundo e possuem coloração cinzenta escura com a face e cabeça negras (IBAMA/CPB, 2008). Os indivíduos adultos medem cerca de 25 cm da cabeça ao fim do corpo, 28 cm de cauda, que apresenta-se de coloração anelada, e possuem massa corpórea variando de 250 a 400 gramas (IBAMA/CPB, 2008; SMITH & JUNGERS, 1997; STEVENSON & RYLANDS, 1988).

Os *C. penicillata* ocupavam originalmente a caatinga e o cerrado brasileiros (HIRSCH *et al.*, 2002), mas atualmente também estão presentes em outras tipologias vegetais como as galerias de florestas, extremidades das florestas secundárias, bosques semidecíduos e vegetação de savanas (CHAGAS *et al.*, 1999; HIRSCH *et al.*, 2002; VILELA & FARIA, 2004). Eles habitam grande parte do território brasileiro, nos estados do Maranhão, Piauí, Tocantins, Goiás, Bahia, São Paulo, Rio de Janeiro, Santa Catarina, no Distrito Federal e de forma conspícua no estado de Minas Gerais (RYLANDS *et al.*, 1993; MIRANDA, 1997) (FIGURA 2).

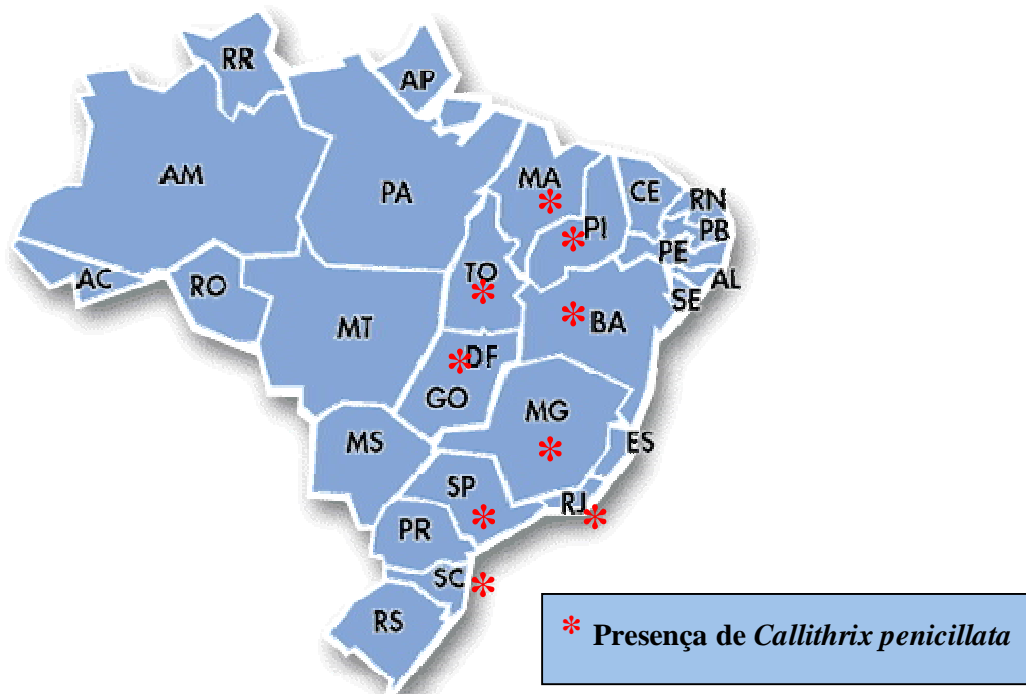


Figura 2. Ocorrência de *Callithrix penicillata* no território brasileiro. Modificado do mapa do Instituto Nacional de Estudos e Pesquisas Educacionais. Disponível em: <<http://www.inep.gov.br>>. Acesso em: 12 jan. 2008.

Uma característica presente nos sagüis é a boa adaptabilidade aos diferentes ambientes, sendo que eles podem viver até mesmo em ambientes perturbados e fragmentados (RYLANDS & FARIA, 1993). Essa adaptabilidade ao meio em que vivem faz com que esses animais aumentem a sua área de distribuição, sua população e a eficiência na exploração do ambiente (STEVENSON & RYLANDS, 1988).

Devido à criação como animais de estimação e a posterior soltura de forma errônea, os sagüis-de-tufos-pretos podem ser encontrados em muitos Estados em que sua presença não é natural e sim introduzida, o que justifica o seu segundo lugar na lista dos mamíferos mais apreendidos ou recolhidos nos Centros de Triagem de Animais Silvestres do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA, 2008).

Uma vez que se instalam em diversos ambientes, os sagüis podem provocar desequilíbrios ambientais através da destruição da fauna local, alimentando-se de ovos de aves, moluscos e pequenos vertebrados, além de transmitir doenças e hibridar-se com congêneres nativos da região, como o *C. jacchus* Linnaeus, 1758 (BICCA-MARQUES *et al.*, 2006).

A reprodução desses e de outros primatas geralmente ocorre de forma sazonal, com nascimentos ocorrendo em épocas específicas do ano, de acordo com fatores ambientais, tais como: fotoperíodo, temperatura, umidade e disponibilidade de alimento (ANDRADE, 2002). Os meses em que ocorre a maioria dos nascimentos coincidem com os períodos chuvosos do ano, onde se têm uma maior disponibilidade de alimento e as condições climáticas estão mais propícias para a sobrevivência da cria (CHAGAS *et al.*, 1999).

Os nascimentos dos infantes de *C. penicillata* seguem um padrão bimodal de sazonalidade, sendo em ambiente natural, no Estado de Goiás, nos meses de Janeiro a Fevereiro e de Agosto a Outubro (VILELA & FARIA, 2004; MIRANDA & FARIA, 2001). Em cativeiro, a maioria dos nascimentos ocorre no período de Janeiro a Março e de Agosto a Outubro, com pico dos nascimentos relatado no mês de Setembro (BARINO *et al.*, 2007), sendo que as variações de luminosidade e temperatura são os principais interferentes na determinação dessa sazonalidade (BARINO *et al.*, 2007; CHAGAS *et al.*, 1999). Pequenas diferenças entre os meses de nascimento podem ser devidas às regiões em que os dados são coletados, uma vez que o Brasil possui um grande território, e as variações climatológicas entre as regiões são significativas; além dos dados serem coletados em diferentes tipos de ambiente, como cativeiro ou natureza.

No que se refere ao convívio social, os sagüis-de-tufos-pretos nativos formam grupos familiares compostos de dois a 13 indivíduos, com mais de um casal de adultos, indivíduos

juvenis e infantes, sendo que os integrantes do grupo podem ser aparentados ou não (BICCA-MARQUES *et al.*, 2006). Apesar da presença de várias fêmeas no grupo, apenas a fêmea alfa se reproduz (STEVENSON & RYLANDS, 1988). Estudos em cativeiro têm demonstrado que a fêmea reprodutora possui ciclos ovarianos normais, e suprime a ovulação das fêmeas subordinadas através de marcações circungenitais no substrato, com liberação de ferormônios e através de atos comportamentais (ABBOT *et al.*, 1993). Nesse sentido, o método utilizado para criação desses sagüis em cativeiro é o monogâmico, em que um macho e uma fêmea adultos formam um casal reprodutor e permanecem juntos cuidando da prole.

A fêmea grávida em cativeiro tem gestação de aproximadamente 148 dias (Peters & Guerra, 1998), com a ocorrência de estro pós-parto, o que permite a ela gestar duas vezes ao ano (BARINO *et al.*, 2007; GOMES & BICCA-MARQUES, 2003), com intervalo de cinco a seis meses entre as gestações (FERRARI *et al.*, 1996; PETERS & GUERRA, 1998). Do parto dos sagüis nascem geralmente gêmeos dizigóticos, podendo ocorrer ainda o nascimento de um, três ou quatro infantes; sendo que não existe predominância de um dos gêneros no nascimento, pois machos e fêmeas nascem na mesma proporção (BARINO *et al.*, 2007; SUSSMAN, 2003).

2.3 O sistema circulatório e o estudo da hematologia nos primatas

O sangue consiste de uma parte líquida, o plasma, no qual estão suspensos os elementos figurados, que correspondem aos eritrócitos (hemácias ou glóbulos vermelhos), leucócitos (glóbulos brancos) e plaquetas (fragmentos do citoplasma dos megacariócitos da medula óssea). O sangue é principalmente um meio de transporte, e por intermédio dele, células leucocitárias percorrem constantemente o corpo e conseguem se concentrar rapidamente nos tecidos atacados por microorganismos, onde desempenham suas funções defensivas (FAILACE, 2003). Além disso, no sangue circulam oxigênio, gás carbônico, nutrientes e metabólitos essenciais para a sobrevivência do organismo (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004). Devido suas funções, o sangue desempenha um papel importante em diversos outros sistemas como o reprodutor, respiratório, digestório, urinário e imunológico.

A avaliação das condições sangüíneas se faz através de mensurações quantitativas e qualitativas de seus elementos e normalmente é dividida em três partes: o eritrograma, com o cálculo da hematimetria, hemoglobimetria, hematócrito, VCM (Volume Corpuscular Médio), HCM (Hemoglobina Corpuscular Média) e CHCM (Concentração de Hemoglobina

Corpuscular Média); o leucograma, com cálculo da leucometria e a contagem diferencial dos leucócitos; e o plaquetograma, com cálculo do número de plaquetas e estudo morfológico das mesmas (ANGULO, 2008). Mais informações sobre esses parâmetros hematológicos podem ser vistas na Tabela 1.

Tabela 1. Mensurações quantitativas dos elementos do sangue, suas medidas e significados.

Mensurações	Medida	Significado
Eritrograma		
Hematimetria	$10^6/\text{mm}^3$	Quantidade de hemácias em um microlitro de sangue total.
Hemoglobinometria	g/dL	Quantidade de hemoglobina encontrada em um decilitro de sangue total.
Hematócrito	%	Porcentagem por volume de hemácias contidas em uma amostra de sangue total.
VCM	fL	Índice que calcula o volume da hemácia.
HCM	pg	Índice que calcula o peso da hemoglobina na hemácia.
CHCM	g/dL	Índice que calcula a concentração da hemoglobina dentro das hemácias.
Leucograma		
Leucometria global	$10^3/\text{mm}^3$	Quantidade de leucócitos em um microlitro de sangue total.
Plaquetograma		
Plaquetometria global	$10^3/\text{mm}^3$	Quantidade de plaquetas em um microlitro de sangue total.

Fonte: ANGULO, 2008.

No sangue normal, circulam unicamente as células completamente maduras, que não são mais capazes de prosseguir em desenvolvimento. As células imaturas encontram-se nos locais onde são formadas, como na medula óssea, só aparecendo no sangue circulante em condições patológicas (LORENZI, 2006). Assim, durante a contagem diferencial dos leucócitos, por exemplo, as células encontradas e contadas são: linfócitos, neutrófilos segmentados, neutrófilos bastonetes, monócitos, eosinófilos e basófilos.

Diversos fatores podem interferir nos valores sanguíneos e no sistema circulatório, dos quais se destacam: a espécie do organismo (DIAS-JÚNIOR *et al.*, 2006; JAIN, 1993), gênero (ANGULO, 2008; CANAVESSI *et al.*, 2000), raça (JAIN, 1993), idade (CANAVESSI *et al.*, 2000; DIAS-JÚNIOR *et al.*, 2006), região geográfica onde o indivíduo se localiza (DIAS-JÚNIOR *et al.*,

2006), temperatura (PAXTON & BENDELE, 1993) e hora do dia em que os dados são coletados (LARSSON *et al.*, 1999; PAXTON & BENDELE, 1993).

Quando se encontram alterações nos padrões hematológicos, essas podem ser devidas também ao estado de saúde dos animais, pois a liberação dos elementos componentes do sangue é processada num padrão organizado, sendo que a produção das células sangüíneas é igual à utilização mais a perda; desta forma, qualquer distúrbio que acelere a utilização ou prejudique a produção de células sangüíneas, implicará em alterações nos índices hematológicos (LORENZI, 2006). Nesse rol, pode ser incluída a utilização de drogas visto que muitas dessas têm sido associadas a alterações severas do sistema cardiovascular (HASSIMOTO *et al.*, 2004).

Para a utilização dos sagüis com fins de pesquisa científica, dados acerca do sistema sangüíneo dos animais se faz necessário, sendo que o hemograma (análise dos elementos do sangue) é um dos principais exames realizados em animais de experimentação nos biotérios e a sua determinação é importante para a verificação das patologias, validação das drogas farmacêuticas e na manutenção das colônias, para se ter um perfil de segurança nas pesquisas biomédicas (LIBERATI *et al.*, 2004; HAVILL *et al.*, 2003).

O hemograma é realizado quando se quer ter uma resposta mais rápida de possíveis alterações que podem estar ocorrendo no organismo (LORENZI, 2006). A avaliação hematológica é importante, pois permite analisar o estado de saúde dos animais e diagnosticar doenças, mesmo antes do aparecimento dos sintomas. Além disso, é de grande relevância no acompanhamento dos tratamentos, fornecendo dados que possibilitam avaliar a resposta terapêutica (NAVES *et al.*, 2006). Através da comparação do hemograma de um indivíduo ou de um grupo de indivíduos, com um padrão pré-estabelecido através de dados coletados anteriormente para aqueles organismos, pode-se inferir sobre possíveis patogenias que o indivíduo possa apresentar. Assim, a determinação de parâmetros hematológicos para cada espécie em cada ambiente permite a correta validação dos estudos em que essa é utilizada como animal de experimentação, ao mesmo tempo em que ajuda a promover o sucesso na criação da espécie em cativeiro (BOERE, 2001).

Estudos com animais em diferentes tipos de ambiente têm demonstrado que o local onde se encontram reflete uma profunda relação nos parâmetros fisiológicos, fazendo com que esses se alterem quando os animais são de criatórios em ambientes internos ou externos, e quando são animais que se encontram soltos na natureza (ROBEL *et al.*, 1996). O mesmo ocorre durante o período de aclimatação de um primata não-humano a um novo ambiente, quando as variações dos elementos sangüíneos podem demorar até seis meses para voltar ao

padrão hemtológico normal (HASSIMOTO *et al.*, 2004). Visto isso, a determinação dos parâmetros hematológicos deve ser realizada nos diferentes ambientes, uma vez que os animais criados sob diferentes condições climáticas e de manejo podem apresentar evidentes variações dos elementos constituintes do hemograma (BIRGEL, 1982). Dessa forma, os valores obtidos para os animais criados em uma região e em um determinado criatório, não podem ser considerados, sem uma adequada avaliação, como padrão de referência para outro ambiente (FILHO, 1970; BIRGEL, 1982).

A variação dos valores hematológicos de acordo com gênero, idade, período reprodutivo, ambiente e localização geográfica não é determinante em todas as espécies (MYTHILI *et al.*, 2005). Em *Macaca fascicularis* Raffles, 1821, por exemplo, a contagem de células vermelhas possui valor mais alto em machos do que fêmeas, mas não diferem de acordo com a idade (SON, 2002). Já em *Cebus apella* Linnaeus, 1766, o hemograma varia de acordo com sexo e idade (LARSSON *et al.*, 1999), com fêmeas apresentando valores de eritrócitos, hemoglobina e hematócrito mais baixos quando comparados com machos, o que é atribuído à perda sangüínea da menstruação (RIVIELLO & WIRZ, 2001).

Diferenças entre jovens e adultos de *C. apella* mostram que o número de neutrófilos circulante é maior em adultos do que em jovens, ocorrendo o oposto com o número de linfócitos, o que também já foi observado nos humanos (RIVIELLO & WIRZ, 2001). Em *C. penicillata* não existe diferença entre os sexos nos padrões hematológicos, mas jovens apresentam menor taxa de hematócrito quando comparados com adultos, não diferindo em outros índices hematológicos (BOERE *et al.*, 2005).

Além do sexo e idade, o estresse pode provocar alterações hematológicas. Em *C. jacchus* de ambos os sexos, ocorre uma elevação da contagem global de leucócitos e de neutrófilos segmentados no sangue periférico, quando os animais são submetidos a uma situação de estresse agudo (CUNHA *et al.*, 2005). Em *C. penicillata*, além da resposta fisiológica com a elevação dos níveis de cortisol, eles produzem um aumento de monócitos, uma resposta imunológica contra o estresse (BOERE *et al.*, 2003).

Os valores normais dos parâmetros sangüíneos, ou seja, fora dos períodos de gestação e lactação, têm sido reportadas para muitas espécies de primatas não-humanos, principalmente para o gênero *Macaca* Lacépède, 1799 (MARTIN *et al.*, 1973; DE NEEF *et al.*, 1987; PERRETTA *et al.*, 1991; HASSIMOTO *et al.*, 2004; SMUCNY *et al.*, 2004; MYTHILI *et al.*, 2005). Particularmente no caso da subfamília Callitrichinae, a espécie *C. jacchus* é a que apresenta maior número de estudos sobre os parâmetros sangüíneos (MCNEES *et al.*, 1982; DAVY *et al.*, 1984; YARBROUGH *et al.*, 1984; CUNHA *et al.*, 2005). Para a espécie *C. penicillata*, as

referências acerca da fisiologia sangüínea se restringiram aos parâmetros normais de fêmeas e machos, e é escassa na literatura com somente três registros encontrados (DINIZ, 1997; PETERS *et al.*, 2003; BOERE *et al.*, 2005).

A determinação dos valores hematológicos também se faz necessária durante o período gestacional, que está associado a ajustes fisiológicos como alterações dos elementos figurados e humorais do sangue; e anatômicos, com hipertrofia e dilatação do útero, requerendo um aumento na vascularização, pela necessidade de maior perfusão sangüínea (LURIE & MAMET, 2003; SOUZA *et al.*, 2002). Todas essas alterações estão ligadas às acentuadas mudanças no organismo materno e iniciam-se desde o momento da nidação e se estendem por todo o período gestacional até o término da lactação (SOUZA *et al.*, 2002). Observações na gravidez de diversos mamíferos têm indicado que durante a gestação os parâmetros das células vermelhas gradualmente reduzem e permanecem baixos até algumas semanas do pós-parto (JAIN, 1993), o que ficou conhecido como anemia fisiológica ou anemia por hemodiluição (MICHAEL & METCALFE, 1994).

Na gestação humana há elevação do volume sangüíneo total (cerca de 40%), como decorrência do aumento tanto do volume plasmático quanto da massa total de eritrócitos e leucócitos na circulação, mas não de forma proporcional, sendo que o volume plasmático aumenta mais que o da massa eritrocitária (ANGULO, 2008; MICHAEL & METCALFE, 1994). A contagem de células vermelhas, níveis de hemoglobina (Hb) e hematócrito (Ht) se elevam e o volume corpuscular médio (VCM) do eritócito, tende a aumentar pela diminuição do seu diâmetro longitudinal e pelo aumento de espessura de sua camada, tornando-o, também, mais esférico na gestação (SOUZA *et al.*, 2002).

Após a gestação, inicia-se o período de lactação, em que progressivamente o perfil hematológico que se alterou na gestação, tenderá a voltar aos níveis normais do período não-gestacional (SOUZA *et al.*, 2002). Durante a lactação, tem início também o cuidado parental, sendo que o comportamento dos callitriquíneos no cuidado com as crias é realizado de modo cooperativo, particularmente pelos machos adultos, mas também por outros membros do grupo social (BICCA-MARQUES *et al.*, 2006). Ressalta-se aqui o alto gasto energético do cuidado parental e o estresse produzido sobre os carregadores, com elevação dos níveis de cortisol durante esse período (SMITH & FRENCH, 1997).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Área de estudo

O presente trabalho foi realizado na cidade de Juiz de Fora que está localizada no sudeste do estado de Minas Gerais, na mesorregião geográfica da Zona da Mata Mineira em altitudes que variam entre 467 a 1040 m (FIGURA 3A).

De acordo com a classificação de KÖPPEN (1900), a região possui clima Cwa, ou seja, um clima tropical de altitude, apresentando duas estações bem definidas: uma, que vai de outubro a abril, com temperaturas mais elevadas e maiores precipitações pluviométricas e outra, de maio a setembro, mais fria e com menor presença de chuvas. Corresponde a um clima influenciado pelos fatores altimétricos em vista do relevo local, que contribui para a amenização das temperaturas.

A temperatura média do ano de 2006 foi de 19,3°C, e a umidade relativa do ar de 78%. A média da precipitação total anual de 2006 foi de 1337,50 mm e de insolação total 1953,30 horas (BOTTI *et al.*, 2007).

O relevo local é acidentado e de aspecto serrano, característico da região da Mantiqueira. A Mata Atlântica natural da cidade está restrita a poucas unidades de conservação e matas secundárias estão presentes nas áreas ainda não substituídas por lavouras ou pastagens (BOTTI *et al.*, 2007).

Todos os dados para o estudo foram coletados no biotério do Centro de Biologia da Reprodução (CBR) (21°46'46''S; 43°22'22''W), localizado na Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), a 881 m de altitude (FIGURA 3B). Essa área possui uma arborização não-nativa com presença de espécies vegetais brasileiras e introduzidas.

O trânsito de veículos automotores e pessoas ao redor do CBR ocorre somente no horário comercial, sendo que a noite a área fica sob vigilância da UFJF, impedindo a passagem de transeuntes. Nessa mesma área não existe iluminação externa, mantendo o interior do biotério livre de luminosidade no período noturno, não influenciando no fotoperíodo dos animais.



Figura 3. A) Localização da cidade de Juiz de Fora dentro do estado de Minas Gerais, Brasil. B) Localização do biotério do CBR/UFJF na cidade de Juiz de Fora. (Fonte: Programa Google Earth).

3.2 Condições ambientais e de criação

Os animais utilizados nesse estudo permaneceram em duas salas do biotério do CBR/UFJF, onde já se encontravam adaptados a esse ambiente. Cada família foi deixada na mesma sala em que estava, evitando-se assim o estresse produzido pela mudança de ambiente e pelo encontro com grupos de sagüis da outra sala.

As salas do biotério são de alvenaria e possuem portas com sistema de fechamento automático. As janelas do tipo basculante presentes nas salas foram teladas externamente o que evitou a entrada de insetos e outros animais no recinto. Essas janelas permaneceram abertas durante todo o dia, e permitiram a luminosidade e a ventilação do ambiente. Além disso, um sistema de lâmpadas incandescentes com fotoperíodo de 12 horas de claro e 12 horas de escuro, tiveram acendimento e desligamento automático, sendo às 06:00 e às 18:00, respectivamente.

A média de temperatura do ano de 2006 nas salas em que os animais estavam instalados foi de $22,2^{\circ}\text{C} \pm 1,3^{\circ}\text{C}$ (Mínima 15°C ; Máxima 30°C); sendo que nos dias mais frios foi necessária a utilização de aquecedores dentro da sala para elevar a temperatura.

Dentro das salas, os sagüis foram criados em um sistema de reprodução monogâmico. Nesse sistema forma-se um casal de indivíduos que permanecem juntos até o fim da vida. Caso um dos integrantes do casal venha a morrer, ele é substituído por um novo parceiro e verifica-se a boa adaptação do casal. Caso não haja adaptação, o casal é separado e tenta-se outro parceiro. Esse sistema de acasalamento é descrito como a principal forma de reprodução dos calitriquíneos (KINDLOVITS, 1999; BICCA-MARQUES *et al.*, 2006).

As crias obtidas em cada família são mantidas na gaiola por duas gerações. Posteriormente, os indivíduos da geração mais antiga são retirados dessa gaiola para formar novos casais dentro da colônia.

As famílias foram acomodadas em dois tipos de gaiolas de alumínio. As famílias menores, formadas apenas pelo casal reprodutor ou esse mais um filhote, foram colocadas em gaiolas de 50 cm de altura, 75 cm de largura e 60 cm de profundidade. Famílias maiores foram inseridas em gaiolas retangulares maiores, com 160 cm de altura, 80 cm de largura e 100 cm de profundidade.

No interior das gaiolas foram colocados bastões de madeira para funcionar como enriquecimento ambiental; auxiliando no forrageio, descanso, marcação de cheiro, entre outras atividades do animal. Além dos bastões, foi instalada uma caixa-ninho de madeira, onde o animal pode se esconder ou descansar.

Todas as gaiolas foram supridas com comedouro e bebedouro (higienizados diariamente). Semanalmente procedeu-se a lavagem das mesmas com hipoclorito de sódio diluído em água e forramento do fundo removível com maravalha de *Pinus* sp.

A disposição das gaiolas nas salas permaneceu a mesma durante todo o experimento, sendo que as gaiolas maiores ficaram no meio das salas, afastadas 25 cm do chão, e as menores sobre plataformas de concreto.

Os animais eram alimentados três vezes ao dia durante o estudo. A alimentação da manhã consistiu de vitamina de leite em pó, água, farinha láctea e legumes que eram alternados diariamente. Em torno das 13:00 era fornecida ração peletizada (Bonzo; Purina, São Paulo), amolecida em água quente. Ao redor das 15:00 eram dadas bananas com casca. Água fresca e filtrada foi fornecida diariamente *ad libitum*.

3.3 Seleção dos animais

Todos os animais que participaram da pesquisa nasceram no biotério de criação do Centro de Biologia da Reprodução - Universidade Federal de Juiz de Fora entre os anos 1997 e 2003, e são descendentes de sagüis obtidos junto ao Instituto Florestal de Minas Gerais. Somente os adultos reprodutores são marcados com placas ao redor do pescoço indicando sexo e número do indivíduo. Os outros integrantes da família não recebem nenhuma marcação e a diferenciação entre as gerações foi feita através da comparação do tamanho corporal e cortes em áreas específicas do pêlo.

Para o estudo do padrão hematológico foram selecionadas 11 famílias dentro da colônia do CBR. Essas famílias foram formadas há pelo menos um ano antes do experimento. Todos os animais eram adultos e estavam aparentemente, em bom estado de saúde e aptos à reprodução, sendo que oito casais já haviam tido gestações anteriores. Os animais selecionados são descritos na Tabela 3.

Tabela 2. Descrição da amostra de *Callithrix penicillata* mantidos no biotério do Centro de Biologia da Reprodução na Universidade Federal de Juiz de Fora e selecionada para a pesquisa de padrão hematológico.

Grupo (Casal)	Animais (Identificação)	Sexo	Idade	Nº partos	Nº filhotes por parto (Média)	Sexo dos filhotes (Média %)
1	B97	F	7a7m	12	1,83	40,9% F e 59,1% M
	V91	M	8a7m			
2	AM89	F	7a7m	2	2	50% F e 50% M
	AZ88	M	8a7m			
3	AM67	F	6a0m	4	2,25	55,6% F e 44,4% M
	AZ75	M	5a4m			
4	AM83	F	3a9m	1	1	100% F
	AZ93	M	2a3m			
5	AM78	F	4a5m	1	2	100% M
	AZ90	M	2a7m			
6	AM76	F	4a8m	1	1	100% F
	V92	M	7a9m			
7	AM72	F	4a2m	1	1	100% F
	AZ84	M	3a3m			
8	AM77	F	4a7m	1	2	100% M
	AZ83	M	3a3m			
9	AM93	F	2a3m	-	-	-
	AZ73	M	5a8m			
10	AM66	F	5a7m	-	-	-
	AZ86	M	4a3m			
11	AM92	F	2a7m	-	-	-
	V95	M	3a8m			

a = anos; m = meses; F = Fêmea; M = Macho

As informações das famílias que possuíam crias no início do experimento, estão dispostas na Tabela 4, que relata também o tamanho e composição do grupo familiar durante o experimento.

Tabela 3. Tamanho e composição das famílias com gestações anteriores ao presente estudo.

Grupo (Identificação do casal)	Tamanho do grupo	Composição do grupo
1 (B97 x V91)	4	MP, FM, 2FF
2 (AM89 x AZ88)	6	MP, FM, 2FF, 2MF
3 (AM 67 x AZ75)	5	MP, FM, 3FF
4 (AM83 x AZ93)	3	MP, FM, FF
5 (AM78 x AZ90)	4	MP, FM, 2MF
6 (AM76 x V92)	3	MP, FM, FF
7 (AM72 x AZ84)	3	MP, FM, FF
8 (AM77 x AZ83)	4	MP, FM, 2MF

MP = Macho Pai; MF = Macho Filho; FM = Fêmea Mãe; FF = Fêmea Filha.

As famílias selecionadas para a pesquisa foram acompanhadas semanalmente durante um ano e seis meses, sendo que, ao término desse tempo, cinco fêmeas não gestaram.

3.4 Procedimentos com os animais

Anteriormente aos experimentos, os sagüis passaram por um período de habituação ao pesquisador e aos procedimentos adotados. Durante os dois meses anteriores ao experimento os animais foram pegos na gaiola e seu sangue foi retirado como ocorreu na fase experimental. Esse contato do animal com o pesquisador visou minimizar o estresse dos animais devido à manipulação na realização da coleta de sangue e seu conhecimento do pesquisador.

Durante o período experimental, os animais foram retirados individualmente da gaiola, levados até a sala de apoio e colocados em um suporte previamente confeccionado para coleta de sangue. Esse suporte foi feito com uma prancha de madeira, onde o animal repousa seu dorso, juntamente fitas e um tubo que limita seus movimentos sem causar danos (APÊNDICE A).

As amostras de sangue foram retiradas da fêmea de cada casal reprodutor, totalizando 11 coletas sangüíneas por semana. Para o procedimento de coleta de sangue os animais não foram sedados, uma vez que os primatas sul-americanos podem ser contidos manualmente por serem menos agressivos e possuir menor força física (NAVARRO, 2005). Além disso, diversos

estudos têm demonstrado a interferência dos anestésicos sob o sistema fisiológico dos animais, principalmente o sanguíneo (LOOMIS *et al.*, 1980; DINIZ, 1997; LARSSON *et al.*, 1999; KIM *et al.*, 2005). Baseado nisso optamos por realizar apenas a contenção física, visando obter menores interferências nos parâmetros hematológicos.

Através da punção da veia femoral retirou-se 500mL de sangue dos sagüis, sendo que todo o procedimento, desde o manuseio do animal na gaiola até o fim da coleta do sangue ocorreu no tempo médio de dois minutos e trinta segundos. O experimento foi realizado no período compreendido entre 09:00 e 11:00 da manhã, buscando a padronização do tempo para evitar a variação circadiana dos níveis hematológicos ao longo do dia (CUNHA *et al.*, 2005).

Posterior a coleta do sangue, os animais receberam um suplemento de sulfato ferroso (1mL/animal) para restabelecimento mais rápido das condições sanguíneas normais, o que geralmente ocorre em até 24 horas (GREIG *et al.*, 2006).

O período total de coleta do experimento foi de 31 semanas, sendo que o número de coletas variou ao longo do experimento de acordo com a ausência de gestação e o fim da amamentação.

Durante os quatro primeiros meses de experimento, os animais foram analisados diariamente para a verificação da ocorrência de gestação. Das fêmeas selecionadas, seis tiveram gestação, sendo que dessas fêmeas foram retiradas amostras sanguíneas até o fim da amamentação. Como a gestação de *C. penicillata* ocorre em épocas específicas do ano, com sazonalidade nos nascimentos, optou-se por não mais realizar a coleta de sangue nas fêmeas não-gestantes, uma vez que a probabilidade delas terem crias seria apenas para o próximo ano.

3.5 Processamento das amostras, leitura e interpretação do sangue

Imediatamente após a coleta, o sangue foi acondicionado em tubo com 5 µl de EDTA (ácido etilendiamino tetra-acético) para evitar a coagulação sanguínea. Esse sangue foi levado ao laboratório de análises hematológicas do CBR/UFJF.

A análise das amostras hematológicas foi realizada em contador de células sanguíneas (CC-550; Celm, São Paulo) com diluidor automático (DA-500; Celm, São Paulo). Essa análise incluiu: contagem da concentração de eritrócitos, total de leucócitos, níveis de hemoglobina, hematócrito e índices hematimétricos [volume corpuscular médio (VCM); hemoglobina corpuscular média (HCM); concentração de hemoglobina corpuscular média

(CHCM)]. Vale ressaltar que o contador de células sanguíneas foi calibrado com sangue dos primatas para a validação dos resultados, seguindo orientações de JAIN (1993).

Durante a coleta do sangue, foram realizados esfregaços sanguíneos com o sangue sem anticoagulante para realização da contagem diferencial dos leucócitos. Todos os esfregaços foram feitos em duplicata, sendo que a melhor lâmina foi escolhida para a realização da leitura baseando-se no esfregaço sanguíneo mais uniforme, no qual todas as células estavam separadas e não se sobrepunham, e apresentava a melhor coloração. Para a coloração das lâminas utilizou-se o conjunto de corantes do Panótico Rápido (Laborclin; Paraná, Brasil).

A leitura das lâminas foi efetuada em microscópio óptico primeiramente em objetiva de pequena ampliação (100X) o que já possibilita verificar alguma alteração celular quando elas existem em todo esfregaço. Posteriormente, utilizou-se uma objetiva de grande ampliação de imersão em óleo (1000X) para identificar cada tipo de leucócito presente no sangue e verificar possíveis anomalias.

Para a contagem dos leucócitos deslocamos o campo visual na lâmina em forma de zigue-zague, na área de contagem onde os eritrócitos e leucócitos estão separados uns dos outros e livres de artefatos. Foi contado um total de 100 leucócitos, quando então temos a proporção de cada tipo de leucócito presente no esfregaço do animal. A identificação dos leucócitos foi realizada baseando em LORENZI (2006), sendo que as células foram assim identificadas:

Neutrófilo segmentado (FIGURA 4): com citoplasma oxífilo, corando-se de rosa-pálido pelo corante Panótico rápido. Apresenta-se repleto de granulações específicas bem pequenas que são as granulações neutrófilas. O núcleo normalmente possui vários segmentos, desiguais, unidos entre si por filamentos de cromatina. O número de segmentos oscila entre dois e cinco.

Neutrófilo bastonete (FIGURA 5): com citoplasma oxífilo, corando-se de rosa-pálido pelo corante Panótico rápido. O núcleo não se apresenta segmentado, mas sob a forma de bastão geralmente recurvado uniformemente.

Eosinófilo (FIGURA 6): o citoplasma é oxífilo ou de leve tom azul-celeste, apresentando-se repleto de granulações eosinófilas específicas, muito refrigentes, que os caracterizam. São granulações grandes, arredondadas ou ovais, que enchem toda a célula. O núcleo apresenta, em geral, dois segmentos, ligados por filamento, freqüentemente em forma de haltere.

Basófilo (FIGURA 7): possui o citoplasma oxífilo, apresentando-se com abundantes granulações basófilas específicas, grosseiras e sem brilho, distribuídas desigualmente em toda

a célula, em geral, recobrando parcial ou totalmente o núcleo. O núcleo é lobulado em formas extravagantes.

Linfócitos (FIGURA 8): possui o citoplasma basófilo. Esse citoplasma é escasso, formando uma faixa estreita, às vezes apenas visível de um dos lados, sem granulações. O núcleo apresenta-se arredondado com pequena chanfradura lateral.

Monócitos (FIGURA 9): apresentam o citoplasma abundante e fracamente basófilo. O núcleo é grande, arredondado, oval ou reniforme; às vezes apresenta chanfradura, dando-lhe aspecto de pseudolobulado.

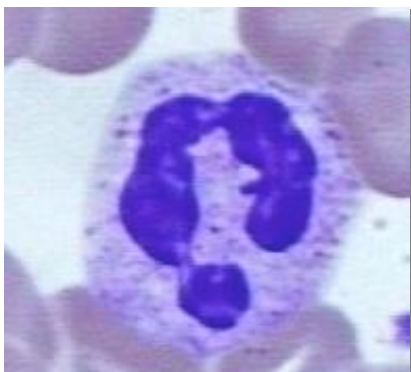


Figura 4: Neutrófilo segmentado. Fonte: Atlas de Hematologia – Universidad de Panamá. Disponível em: <http://www.telmeds.org/AVIM/Ahema/serie_blanca/ontogenia_granulocitica.htm>. Acesso em: 12 jan. 2008.

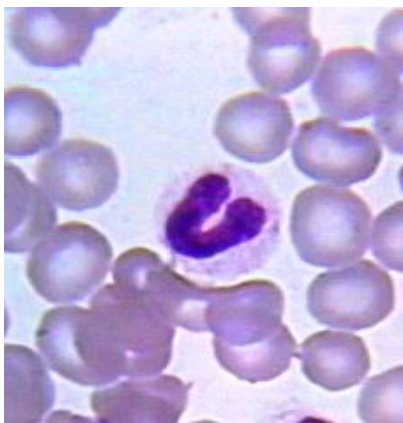


Figura 5: Neutrófilo bastonete. Fonte: Atlas de Hematologia – Universidad de Panamá. Disponível em: <http://www.telmeds.org/AVIM/Ahema/serie_blanca/ontogenia_granulocitica.htm>. Acesso em: 12 jan. 2008.

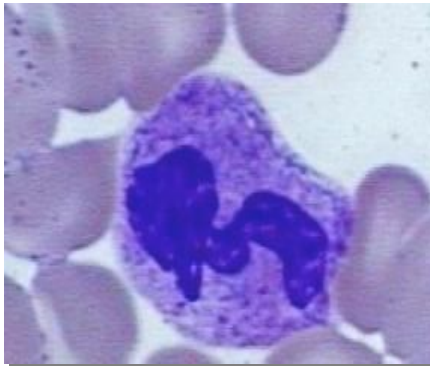


Figura 6: Eosinófilo. Fonte: Atlas de Hematologia – Universidad de Panamá. Disponível em: <http://www.telmeds.org/AVIM/Ahema/serie_blanca/ontogenia_granulocitica.htm>. Acesso em: 12 jan. 2008.

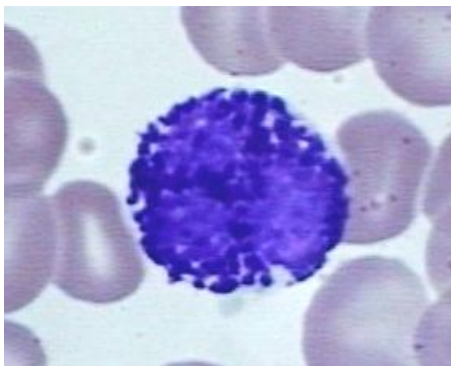


Figura 7: Basófilo. Fonte: Atlas de Hematologia – Universidad de Panamá. Disponível em: <http://www.telmeds.org/AVIM/Ahema/serie_blanca/ontogenia_granulocitica.htm>. Acesso em: 12 jan. 2008.

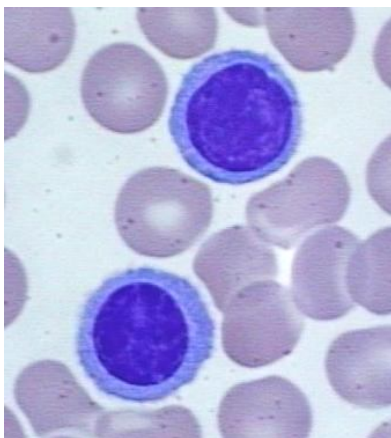


Figura 8: Linfócito. Fonte: Atlas de Hematologia – Universidad de Panamá. Disponível em: <http://www.telmeds.org/AVIM/Ahema/serie_blanca/ontogenia_granulocitica.htm>. Acesso em: 12 jan. 2008.

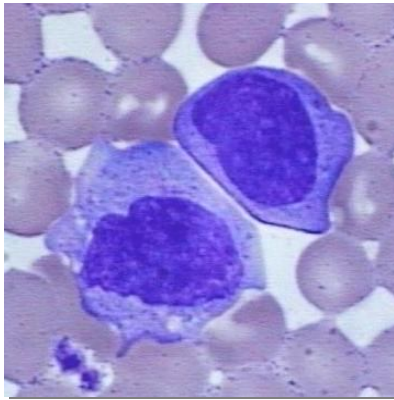


Figura 9: Monócito. Fonte: Atlas de Hematologia – Universidad de Panamá. Disponível em: <http://www.telmeds.org/AVIM/Ahema/serie_blanca/ontogenia_granulocitica.htm>. Acesso em: 12 jan. 2008.

3.6 Análise dos dados

A determinação dos valores hematológicos semanais dos animais utilizados na pesquisa foi realizada através de estatística descritiva, com o cálculo da média, do desvio padrão e da amplitude de variação (valor máximo e mínimo).

Para realizarmos a comparação entre os grupos das fêmeas controle (não-gestantes), gestantes e lactantes, foram calculados a média e o erro padrão para cada um dos períodos analisados, através da soma das médias de cada fêmea. Através desses dados foi possível realizar o teste ANOVA – um critério com posterior teste de Tukey para verificar entre quais grupos havia diferença significativa. Esses testes foram utilizados para cálculo da hematimetria, hemoglobinometria, hematócrito, leucometria global, VCM, HCM e CHCM.

A contagem diferencial dos leucócitos foi analisada através de estatística descritiva, uma vez que o número de algumas células leucocitárias encontradas no sangue é muito pequeno.

Os cálculos foram realizados utilizando os programas estatísticos SPSS 12.0, BioStat 4.0 e Primer 3.02.

As diferenças encontradas tiveram nível de significância estatística estabelecida em $\alpha \leq 0,05$ (VIEIRA, 2004).

3.7 Princípios éticos

Todo o estudo foi desenvolvido de acordo com os princípios éticos da Experimentação Animal elaborado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e aprovado pelo Comitê de Ética na Experimentação Animal da Universidade Federal de Juiz de Fora (Protocolo nº 051/2006).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com respeito à hematologia dos primatas não-humanos, de forma geral, existem muitos relatos compreendendo os primatas do Velho Mundo, e ao contrário, poucas informações disponíveis sobre os primatas do Novo Mundo. Nesse rol, incluem-se os sagüis-de-tufos-pretos, animais ainda pouco estudados principalmente no que se refere à sua fisiologia sangüínea.

Serão apresentados inicialmente os dados das fêmeas que não gestaram (Grupo Controle, n=5), e posteriormente os dados das fêmeas que tiveram gestação (n=6) e lactação (n=4).

4.1 Hematologia das fêmeas não-gestantes

Após a análise estatística dos dados obtidos no presente trabalho foram encontrados os valores hematológicos dispostos na Tabela 4 para as fêmeas de *C. penicillata* que não entraram em período gestacional. Na mesma tabela inserimos os valores hematológicos relatados na literatura.

Tabela 4. Valores hematológicos de *Callithrix penicillata* do presente estudo comparativamente com os relatos da literatura.

Parâmetro hematológico	Medida	Média ± Desvio padrão			
		Presente estudo	BOERE <i>et al.</i> , 2005	PETERS <i>et al.</i> , 2003	DINIZ, 1997
		Fêmeas (n=5)	Fêmeas (n=8)	Fêmeas (n=10)	Fêmeas e Machos (n=17)
Hematimetria	10 ⁶ /mm ³	6,78 ± 0,82	6,00 ± 0,29	5,72 ± 0,57*	6,40 ± 0,96
Hemoglobinometria	g/dL	15,66 ± 1,24	13,65 ± 1,26	16,20 ± 1,10	14,36 ± 1,72
Hematócrito	%	53,76 ± 3,93	41,00 ± 1,91*	52,20 ± 4,70	-
Leucometria global	10 ³ /mm ³	7,42 ± 2,20	8,70 ± 0,47	6,46 ± 1,53	7,50 ± 2,80
VCM	fL	79,60 ± 5,98	-	91,30 ± 1,60*	68,90 ± 6,70*
HCM	pg	23,20 ± 1,10	-	28,40 ± 1,50*	-
CHCM	g/dL	29,20 ± 1,30	-	31,20 ± 1,40	32,65 ± 2,30*

VCM = Volume Corpuscular Médio; HCM = Hemoglobina Corpuscular Média; CHCM = Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média. - : valor não informado. * $p \leq 0,05$.

Quando comparamos os valores hematológicos dos animais do presente estudo com os dados de BOERE *et al.* (2005), vimos que o valor do hematócrito foi destacadamente maior no nosso trabalho ($p \leq 0,05$). Essa variação encontrada nesse parâmetro hematológico condiz com o exposto na literatura, uma vez que animais criados em diferentes ambientes, podem apresentar variações nos níveis dos elementos sangüíneos. Assim, alterações de região, clima, tipo de criatório e condições de criação são determinantes para a análise do hemograma dos animais (BIRGEL, 1982; ROBEL *et al.*, 1996). No caso dos animais citados por BOERE *et al.* (2005), esses são mantidos em condições de criatório diferentes das nossas, com maior influência das variáveis ambientais, na cidade de Brasília - Distrito Federal. Além disso, esse autor utilizou quetamina como agente anestésico, e é sabido que a quetamina pode provocar uma diminuição nos valores do eritrograma, uma vez que promove a reversão dos estímulos estressores, pela diminuição dos níveis de catecolaminas (BENNET *et al.*, 1992). A diminuição das catecolaminas induzida pela anestesia pode ser apontada como uma das causas das alterações hematológicas ocasionadas de modo indireto pelo anestésico (FLAIBAN, 2006).

Comparativamente ao trabalho de PETERS *et al.* (2003), os valores de hematimetria do presente estudo foi significativamente maior ($p \leq 0,05$). Os índices hematimétricos VCM e HCM também diferiram significativamente. As diferenças entre os nossos valores e os encontrados por PETERS *et al.* (2003), em que os animais correspondem ao mesmo cativeiro, podem estar relacionadas as mudanças estruturais efetuadas nos últimos anos nesse criatório para minimizar as variações ambientais. Além disso, o hemograma realizado por PETERS *et al.* (2003) foi feito manualmente, ao passo que no presente estudo foi através de contadores específicos, e os aparelhos de automação em hematologia calculam os índices hematimétricos de forma diferente a realizada manualmente, além de que os aparelhos automatizados oferecem alta sensibilidade e precisão na realização do hemograma (FAILACE & PRANKE, 2004).

Em relação aos dados relatados por DINIZ (1997), os nossos valores hematológicos diferiram nos índices hematimétricos VCM e CHCM ($p \leq 0,05$). Essa variação pode ter ocorrido no cálculo desses índices, que é feito de forma diferente no aparelho de automação hematológico (presente estudo) da forma de cálculo manual efetuado por DINIZ, 1997. Cabe ressaltar que no trabalho dos citados autores não houve diferenciação de gênero na determinação dos parâmetros hematológicos, assim não foi possível realizar uma comparação somente das fêmeas. A junção de fêmeas e machos nos dados de DINIZ (1997) pode ser devido aos relatos de estudos que mostram que fêmeas e machos de sagüis não apresentam diferença significativa entre os valores hematológicos (MCNEES *et al.*, 1984;

BOERE *et al.*, 2005). Esse monomorfismo nos parâmetros hematológicos ocorre também nas medidas de crescimento desses animais (BARINO *et al.*, 2006), pois o tamanho corporal parece ser determinado pela função que os sagüis desempenham em seus grupos sociais, com ambos os sexos auxiliando na busca de alimento e cuidado com as crias, além de outros papéis em comum (BICCA-MARQUES *et al.*, 2006).

Ao realizar a contagem diferencial de leucócitos nos sagüis pudemos observar que essas células são extremamente semelhantes às dos humanos, como pode ser visto na Figura 10.

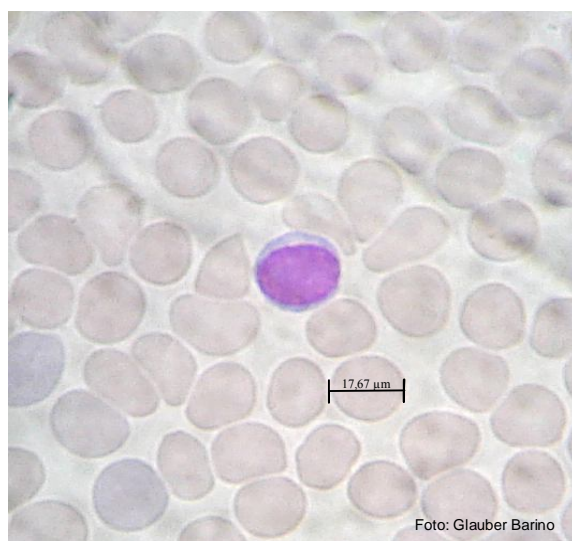


Figura 10. Esfregaço sanguíneo de fêmea de *C. penicillata*. Ao centro um leucócito (linfócito) e ao redor desse, as hemácias.

4.2 Hematologia das fêmeas no período gestacional

Ao se realizar as análises hematológicas das amostras coletadas das fêmeas durante o período gestacional, encontramos os valores semanais descritos no Apêndice C desse trabalho, sendo que nele são encontradas as medidas de hematimetria, hemoglobina, hematócrito, leucometria global, VCM, HCM e CHCM. Os dados obtidos nesse período podem ser analisados através dos Gráficos 1 a 7.

No período gestacional tivemos as análises hematológicas de seis fêmeas, sendo que obtivemos dados de dez semanas anteriores ao parto, que corresponde aproximadamente à metade final da gestação.

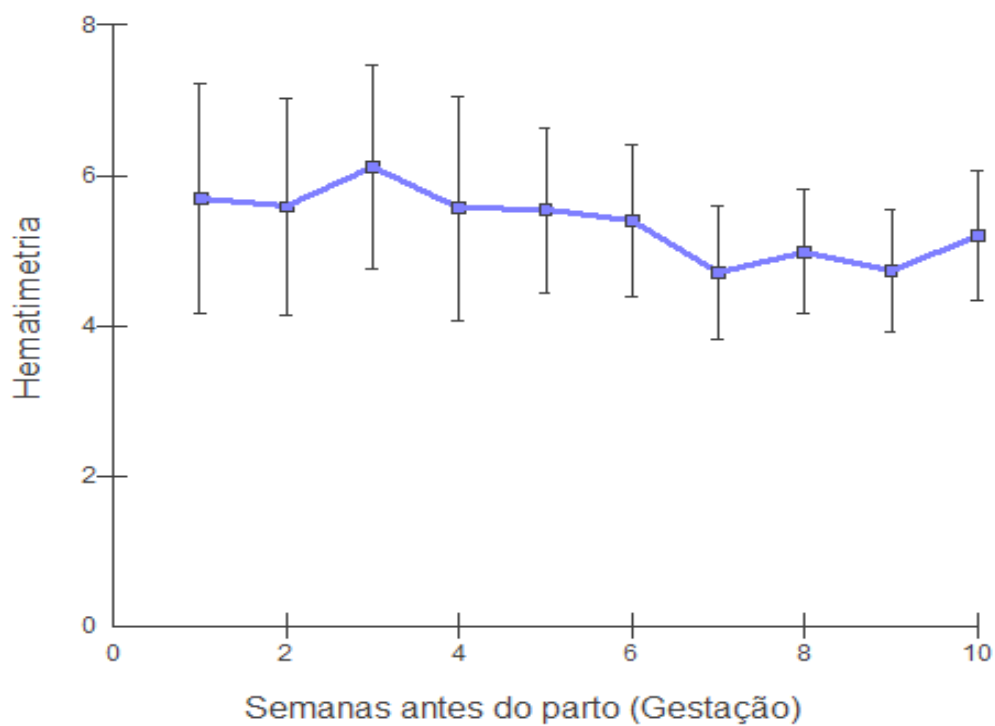


Gráfico 1. Valores semanais da hematimetria das fêmeas gestantes de *Callithrix penicillata*. Valores dados em média \pm desvio padrão ($10^6 \times \text{mm}^3$).

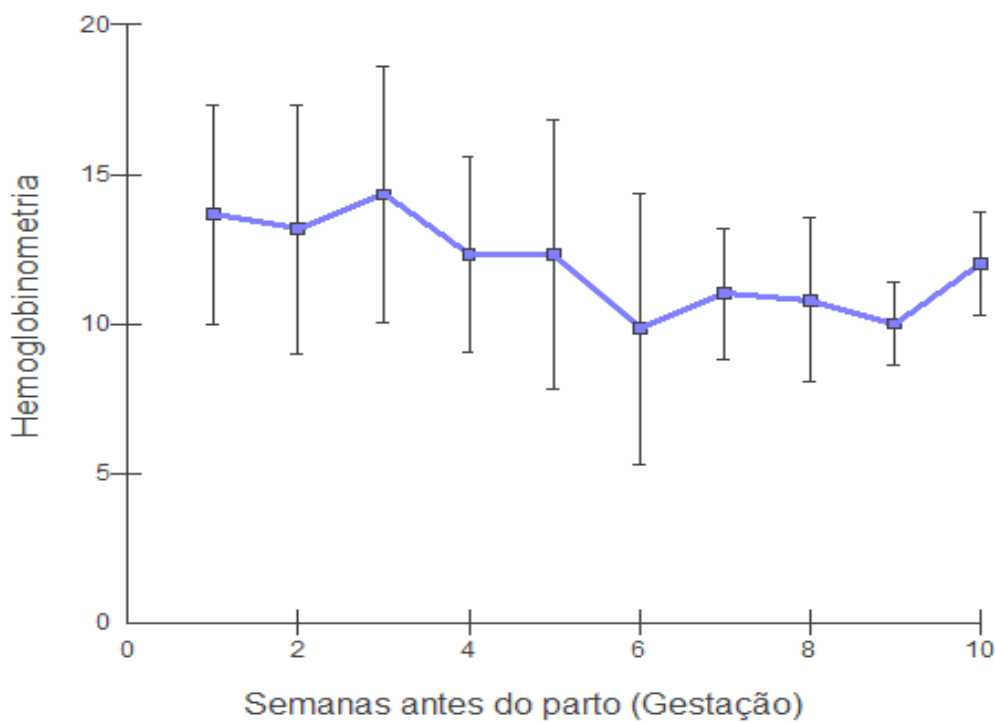


Gráfico 2. Valores semanais da hemoglobina das fêmeas gestantes de *Callithrix penicillata*. Valores dados em média \pm desvio padrão (g/dL).

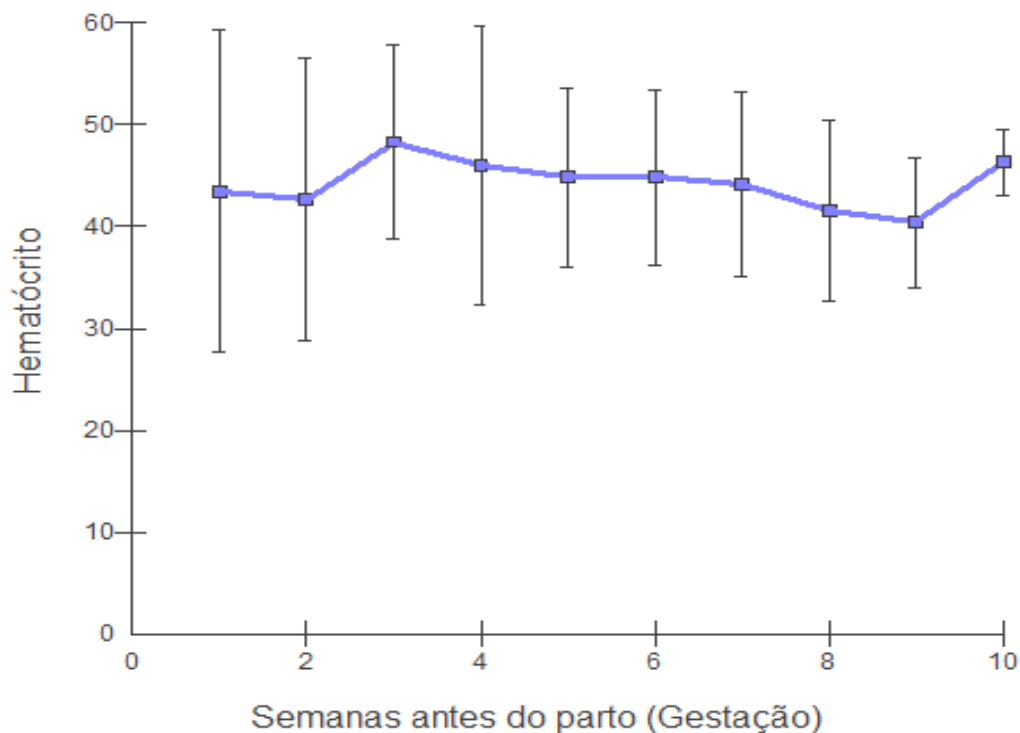


Gráfico 3. Valores semanais do hematócrito das fêmeas gestantes de *Callithrix penicillata*. Valores dados em média \pm desvio padrão (%).

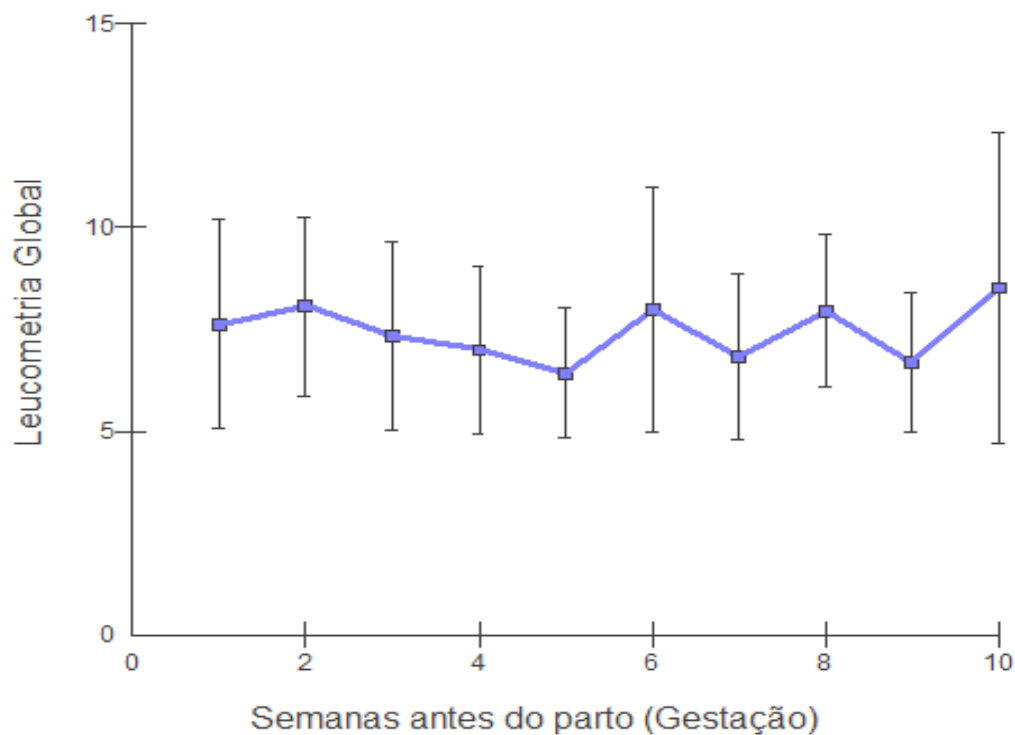


Gráfico 4. Valores semanais da Leucometria Global das fêmeas gestantes de *Callithrix penicillata*. Valores dados em média \pm desvio padrão ($10^3 \times \text{mm}^3$).

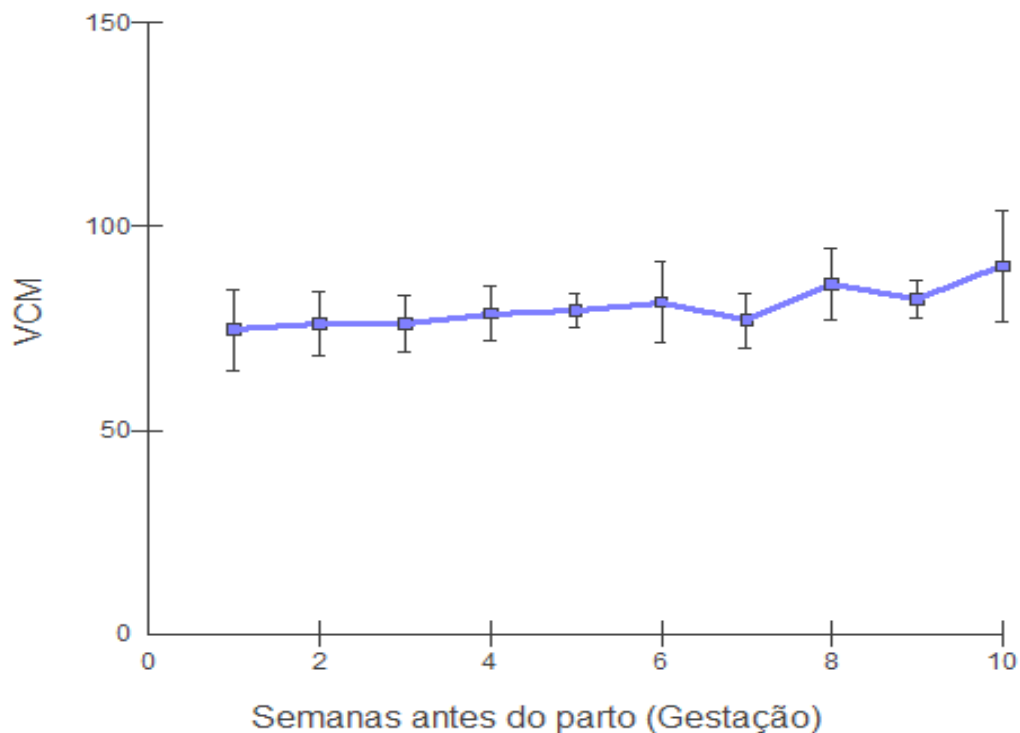


Gráfico 5. Valores semanais do Volume Corpuscular Médio das fêmeas gestantes de *Callithrix penicillata*. Valores dados em média \pm desvio padrão (fL).

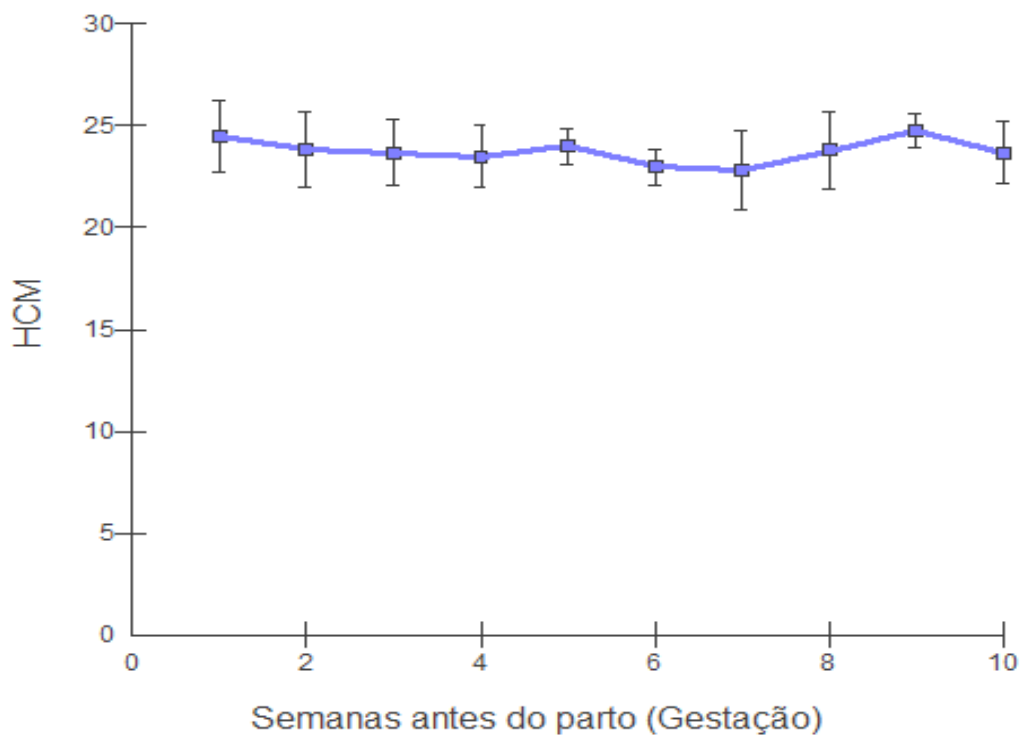


Gráfico 6. Valores semanais da Hemoglobina Corpuscular Média das fêmeas gestantes de *Callithrix penicillata*. Valores dados em média \pm desvio padrão (pg).

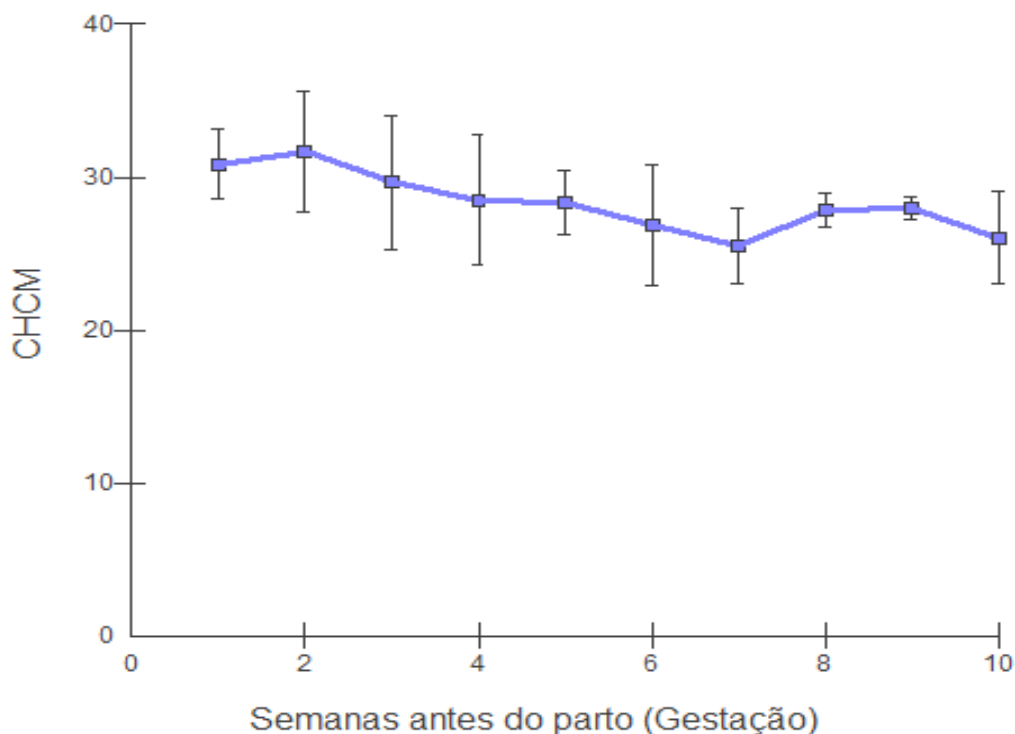


Gráfico 7. Valores semanais da Concentração Hemoglobina Corpuscular Média das fêmeas gestantes de *Callithrix penicillata*. Valores dados em média \pm desvio padrão (g/dL).

Através das análises dos dados, visualizadas nos Gráficos 1 a 7 pôde-se verificar que durante o período gestacional não ocorreram diferenças estatisticamente significativas em nenhum dos parâmetros hematológicos abordados quando foram comparadas as semanas de gestação.

As variações entre as semanas, apesar de não estatisticamente significantes, foram maiores quando comparadas as variações do período lactacional. Isso pode ser devido às mudanças que ocorrem na fase de gestação em que o organismo exige mais do sistema sanguíneo comparativamente ao período de lactação (LURIE & MAMET, 2003; SOUZA *et al.*, 2002).

Não foi possível realizar uma análise comparativa entre os dados obtidos no presente trabalho e outros trabalhos, uma vez que não foi encontrado na literatura pesquisada nenhum trabalho que determinasse os valores hematológicos de *C. penicillata* durante o período gestacional.

A contagem diferencial dos leucócitos no período gestacional pode ser vista na Tabela 5.

Tabela 5. Valores da contagem diferencial de leucócitos de fêmeas de *C. penicillata* durante o período gestacional.

Semanas antes do parto	Linfócitos %	Neutrófilos Segmentados %	Neutrófilos Bastonetes %	Monócitos %	Eosinófilos %	Basófilos %
01	68,50 ± 11,74	29,00 ± 10,72	0-1	0-1	0-3	0-1
02	67,17 ± 8,73	31,00 ± 6,96	0-3	0-2	0-3	0-1
03	69,50 ± 8,36	29,67 ± 8,76	0-1	0-1	0	0
04	68,83 ± 7,49	28,83 ± 8,04	0-1	0-3	0-2	0
05	66,00 ± 8,79	31,67 ± 8,43	0-2	0-1	0-2	0-1
06	68,67 ± 2,34	29,33 ± 2,07	0-2	0-5	0-1	0
07	66,17 ± 9,02	31,83 ± 8,52	0-3	0-2	0	0
08	71,00 ± 6,54	26,50 ± 6,57	0	0-3	0-1	0
09	65,00 ± 14,44	31,60 ± 15,36	0-2	0-3	0-1	0-1
10	64,67 ± 6,43	30,67 ± 4,93	0-1	0-3	0-3	0

Valores dos linfócitos e neutrófilos segmentados dados em média ± desvio padrão. Valores dos neutrófilos bastonetes, monócitos, eosinófilos e basófilos são dados em amplitude de variação (mínimo e máximo). Semana 01 a 07 (n=6); semanas 08 e 09 (n=5) e semana 10 (n=3).

4.3 Hematologia das fêmeas no período lactacional

No Apêndice D temos os valores hematológicos semanais das fêmeas durante o período lactacional, dos quais seus dados serviram de fonte para a confecção dos Gráficos 8 a 14.

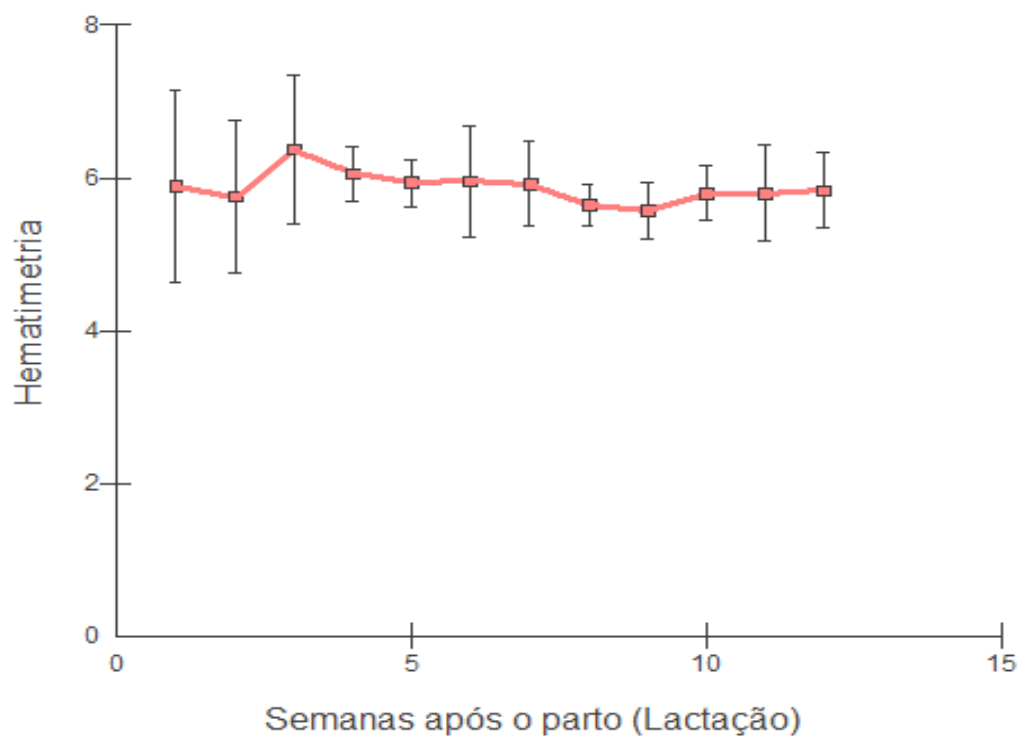


Gráfico 8. Valores semanais da hematemetria das fêmeas lactantes de *Callithrix penicillata*. Valores dados em média ± desvio padrão ($10^6 \times \text{mm}^3$).

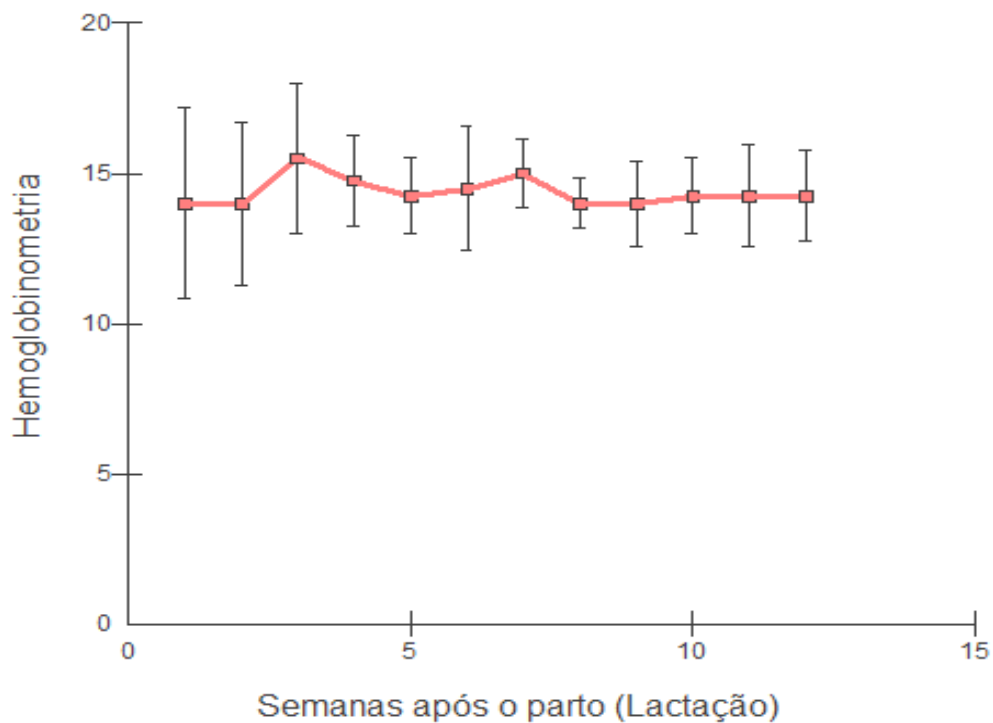


Gráfico 9. Valores semanais da hemoglobina das fêmeas lactantes de *Callithrix penicillata*. Valores dados em média \pm desvio padrão (g/dL).

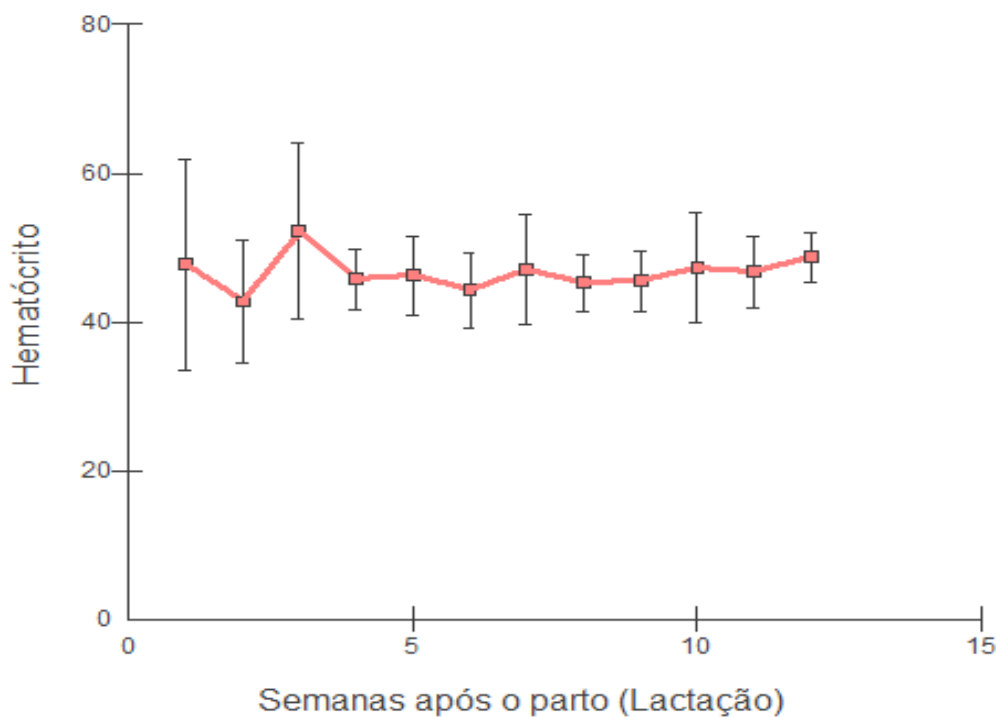


Gráfico 10. Valores semanais do hematócrito das fêmeas lactantes de *Callithrix penicillata*. Valores dados em média \pm desvio padrão (%).

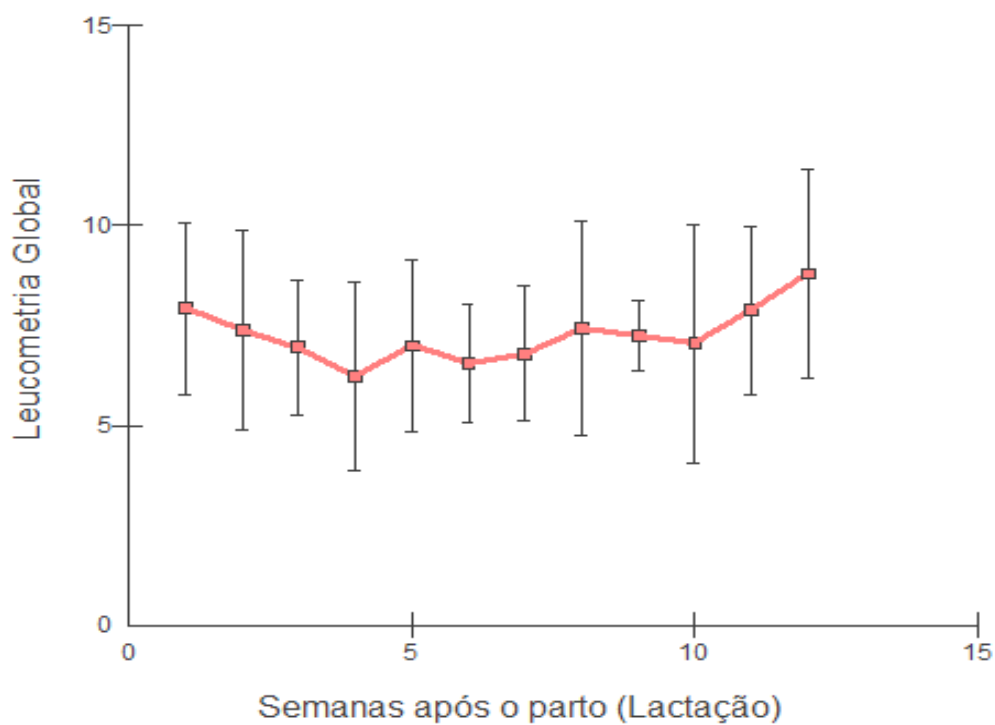


Gráfico 11. Valores semanais da Leucometria Global das fêmeas lactantes de *Callithrix penicillata*. Valores dados em média \pm desvio padrão ($10^3 \times \text{mm}^3$).

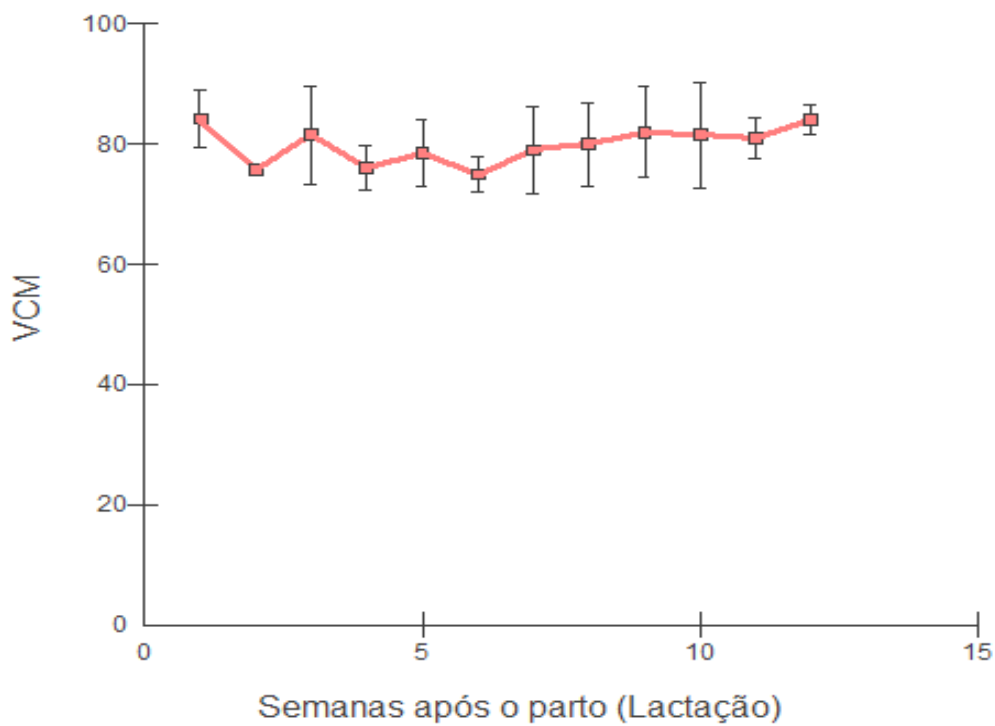


Gráfico 12. Valores semanais do Volume Corpuscular Médio das fêmeas lactantes de *Callithrix penicillata*. Valores dados em média \pm desvio padrão (fL).

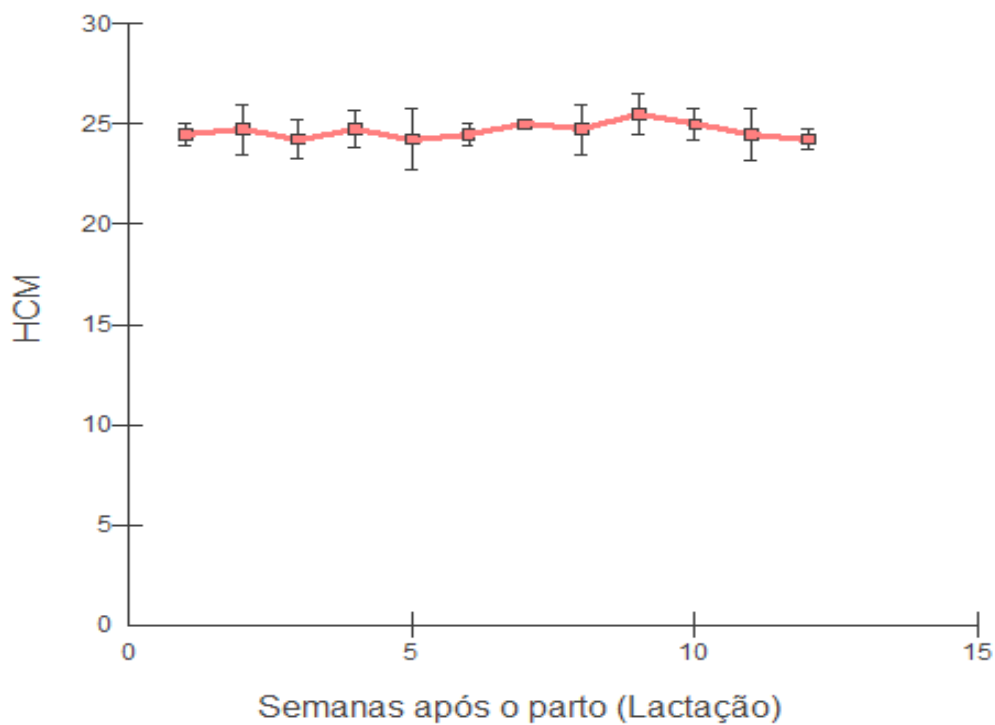


Gráfico 13. Valores semanais da Hemoglobina Corpuscular Média das fêmeas lactantes de *Callithrix penicillata*. Valores dados em média \pm desvio padrão (pg).

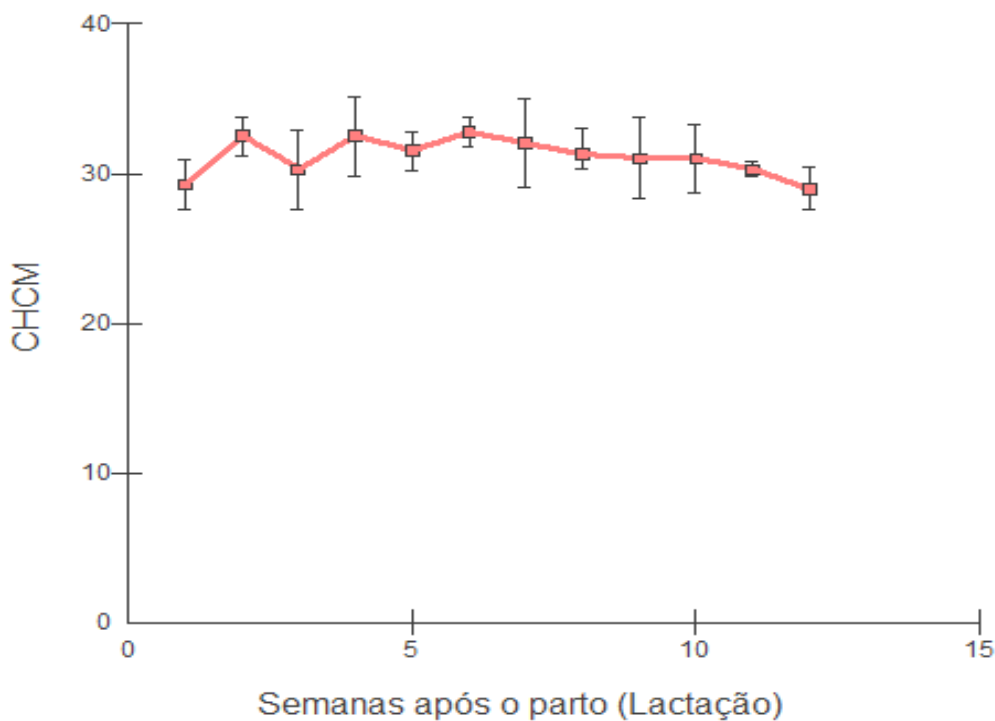


Gráfico 14. Valores semanais da Concentração Hemoglobina Corpuscular Média das fêmeas lactantes de *Callithrix penicillata*. Valores dados em média \pm desvio padrão (g/dL).

Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas em nenhum dos parâmetros hematológicos analisados entre as semanas do período lactacional, como pode ser visto nos Gráficos 8 a 14. Os valores encontrados nesse período tenderam a permanecer mais estáveis durante as semanas do que aqueles encontrados no período gestacional. Isso pode ser devido às mudanças mais bruscas que ocorrem na gestação quando comparadas a lactação, quando o organismo está recuperando, gradualmente, seu padrão hematológico normal (SOUZA *et al.*, 2002).

Não foi possível realizar uma análise comparativa entre os dados obtidos no presente trabalho com outros trabalhos, uma vez que não foi encontrado na literatura pesquisada nenhum trabalho que determinasse os valores hematológicos de *C. penicillata* durante o período lactacional.

No período lactacional realizamos a análise hematológica de quatro fêmeas das seis que gestaram, isso foi devido à morte de uma fêmea por distócia no momento do parto, e a morte dos filhotes de outra fêmea.

De todos os partos desse estudo nasceram duas crias por casal, com machos e fêmeas na mesma proporção, corroborando com os dados anteriormente encontrados por BARINO *et al.* (2007).

Foi observado o processo de amamentação de até a 11^a semana após o parto em três fêmeas e até 12^a em uma fêmea. O período de 11 semanas em que os infantes mamam foi similar ao encontrado na literatura para outras espécies como *Callithrix aurita* Étienne Geoffroy, 1812 (SANTOS & MARTINS, 2000) e *C. jacchus* (YAMAMOTO *et al.*, 1996).

Na Tabela 6 visualiza-se o número de células encontradas na contagem diferencial de leucócitos durante este período.

Tabela 6. Valores da contagem diferencial de leucócitos de quatro fêmeas de *C. penicillata* durante o período lactacional.

Semana pós-parto (n=4)	Linfócitos %	Neutrófilos Segmentados %	Neutrófilos Bastonetes %	Monócitos %	Eosinófilos %	Basófilos %
0	68,00 ± 5,42	28,50 ± 4,51	0-2	0-3	0-3	1
01	71,00 ± 9,49	26,25 ± 8,66	0-1	0-2	0-2	0
02	69,50 ± 11,15	27,75 ± 10,24	0-2	0-2	0-1	0
03	67,50 ± 9,95	28,50 ± 9,98	0-1	0-1	0-4	0
04	65,00 ± 3,56	33,00 ± 4,97	0-1	0-2	0-2	4
05	61,75 ± 7,41	35,00 ± 6,68	0-1	0-2	0-2	0
06	65,25 ± 3,10	32,50 ± 3,42	0-2	0-1	0-1	0
07	64,00 ± 3,37	32,50 ± 4,04	0-2	0-2	0-2	0
08	68,00 ± 11,75	30,25 ± 11,90	0-1	0-1	0-1	0
09	61,50 ± 6,40	35,00 ± 6,00	0-3	0-2	0-2	0
10	66,50 ± 2,65	30,00 ± 3,46	0-3	0-1	0-1	0
11	65,25 ± 11,09	32,00 ± 11,52	0-2	0-1	0-1	0

Valores dos linfócitos e neutrófilos segmentados dados em média ± desvio padrão; valores dos neutrófilos bastonetes, monócitos, eosinófilos e basófilos que são dados em amplitude de variação (mínimo e máximo).

4.4 Comparação dos hemogramas durante os períodos estudados

Ao realizarmos uma análise comparativa entre os valores dos parâmetros hematológicos encontrados nesse trabalho nos diferentes períodos pôde-se observar que ocorreram diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as médias das medidas de hematimetria, dos níveis de hemoglobina e do hematócrito entre os valores das fêmeas não-gestantes e as gestantes. O índice hematimétrico CHCM diferiu significativamente entre o grupo das fêmeas gestantes e das lactantes.

As médias e erros padrões dos valores hematológicos para cada grupo podem ser encontrados no Apêndice E e são analisados nos Gráficos 15 a 21.

Os Gráficos 15, 16 e 17 plotam os valores obtidos para a contagem de eritócitos, dos níveis de hemoglobina e do hematócrito, respectivamente, durante os períodos analisados nesse trabalho. Verifica-se na análise dos três índices uma tendência a queda durante o período de gestação quando comparado com o período lactacional, mas esse decréscimo não foi estatisticamente significativo como o foi quando se comparou os valores encontrados durante o período gestacional com os valores do grupo das fêmeas que não gestaram.

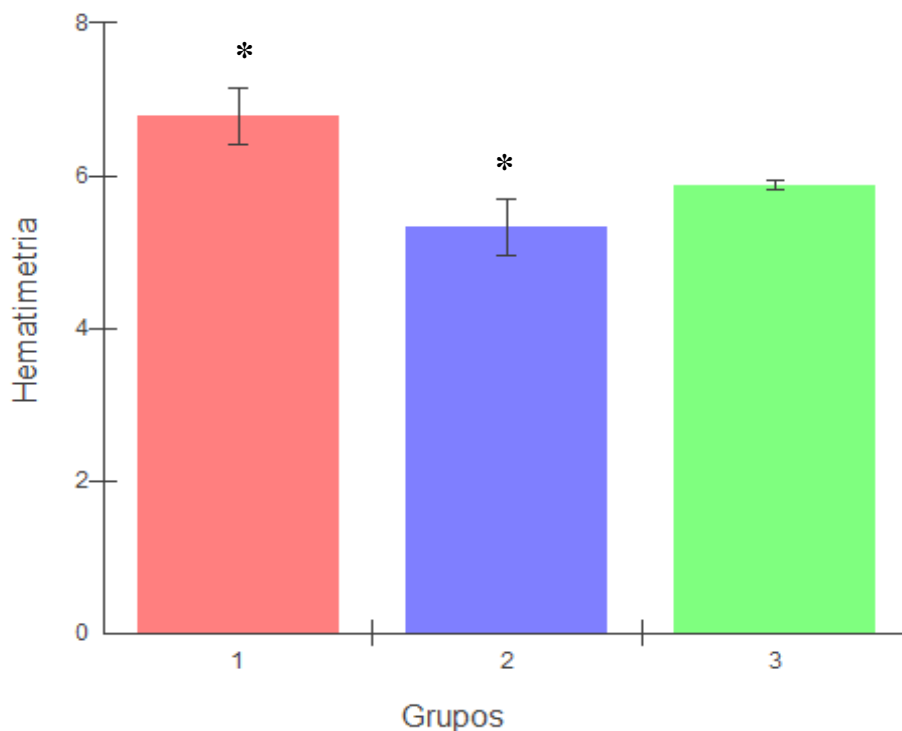


Gráfico 15. Histograma comparativo dos valores da hematimetria de *Callithrix penicillata* durante os períodos estudados. Grupo 1 = Não-gestantes; Grupo 2 = Gestantes; Grupo 3 = Lactantes. Valores dados em média \pm erro padrão ($10^6 \times \text{mm}^3$). * $p \leq 0,05$.

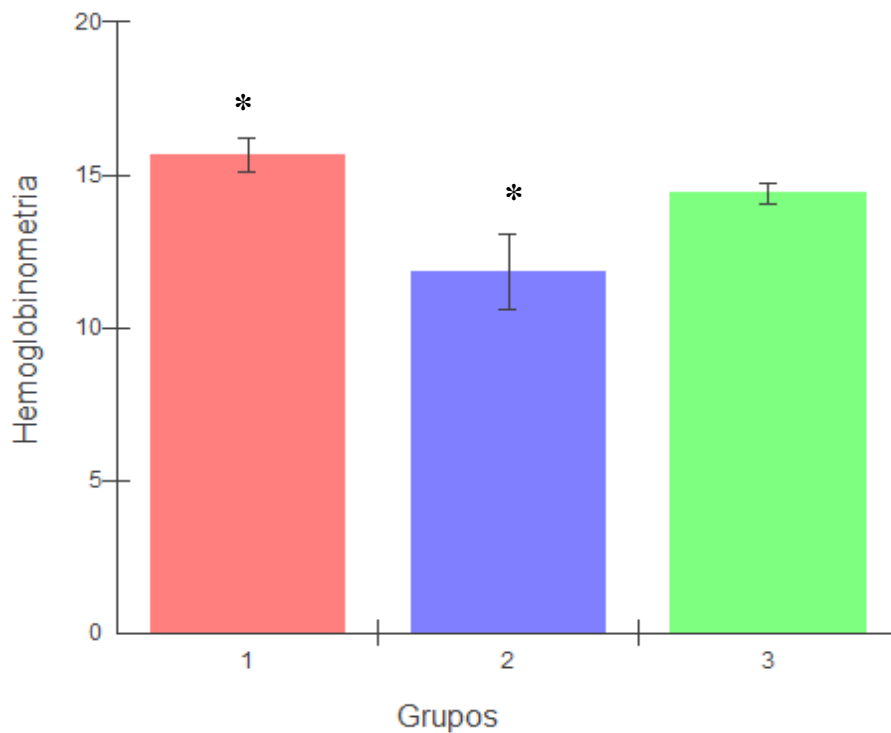


Gráfico 16. Histograma comparativo dos valores de hemoglobina de *Callithrix penicillata* durante os períodos estudados. Grupo 1 = Não-gestantes; Grupo 2 = Gestantes; Grupo 3 = Lactantes. Valores dados em média ± erro padrão ($10^6 \times \text{mm}^3$). * $p \leq 0,05$.

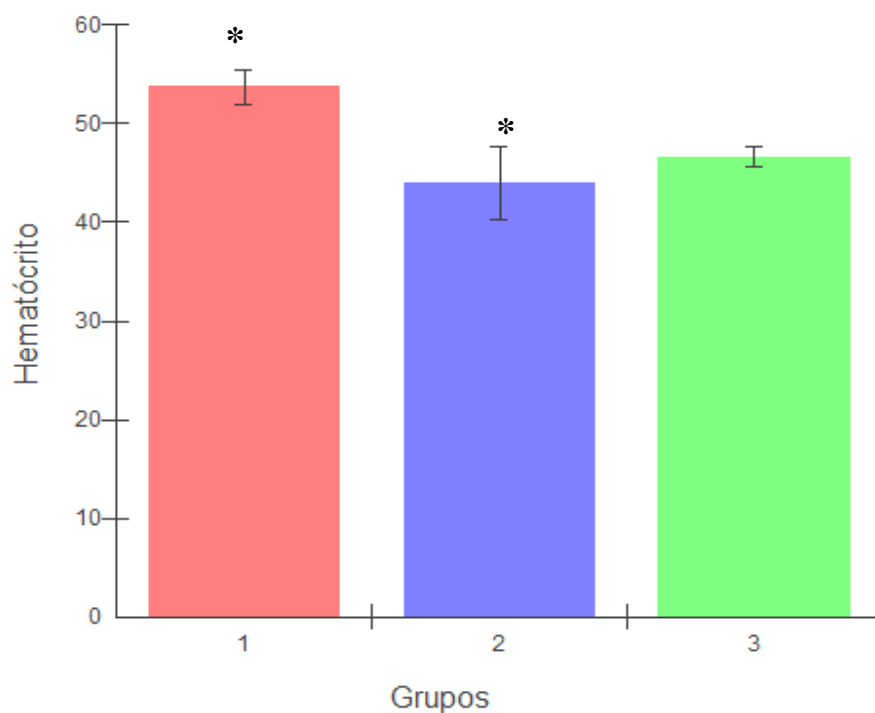


Gráfico 17. Histograma comparativo dos valores do hematócrito de *Callithrix penicillata* durante os períodos estudados. Grupo 1 = Não-gestantes; Grupo 2 = Gestantes; Grupo 3 = Lactantes. Valores dados em média ± erro padrão ($10^6 \times \text{mm}^3$). * $p \leq 0,05$.

Durante a gravidez ocorre hemodiluição e aumento da massa eritrocitária, mas de maneira desproporcional, favorável à primeira, o que provoca uma queda na contagem das hemácias, da hemoglobina e alteração no volume plasmático do hematócrito (ANGULO, 2008; LURIE & MAMET, 2003). No período gestacional ocorre uma elevação do volume sanguíneo total, sendo que em mulheres o volume sanguíneo pode aumentar em cerca de 40 a 50% (SOUZA *et al.*, 2002). Esse aumento do volume sanguíneo ocorre devido ao aumento do volume plasmático e da massa total de eritrócitos e leucócitos na circulação (ANGULO, 2008).

A diminuição na contagem de eritrócitos ou da taxa de hemoglobina ou de ambos determina uma patologia denominada anemia (LORENZI, 2006), que sob o enfoque fisiológico é tida como a condição em que o fornecimento de oxigênio aos tecidos processa-se de modo inadequado, devido à deficiência de hemoglobina disponível (FAILACE, 2003).

Na gravidez a anemia ocorre no final da gestação, no caso das mulheres nos últimos três meses, mas a anemia é artificial e depende da expansão do volume plasmático materno como resposta fisiológica. Embora, as células sanguíneas da mãe também aumentam durante a gestação, a expansão do volume do plasma não é sincronizado (SCHOLL & HEDIGER, 2002).

Nos sagüis, a contagem diminuída de eritrócitos, de hemoglobina e do hematócrito pode estar relacionada à hipervolemia fisiológica da gravidez que garante o suporte de oxigênio e nutrientes para o feto, ao mesmo tempo em que protege a mãe contra prováveis efeitos danosos da diminuição do retorno venoso decorrente da compressão uterina durante a gestação e da perda sanguínea no parto (ANGULO, 2008). Assim, a diferença nos valores para gestantes e lactantes não corresponde a uma anemia verdadeira, e sim a uma “anemia fisiológica” que na verdade não apresenta diminuição nas células sanguíneas, apenas um aumento do volume sanguíneo pelo aumento da quantidade de plasma circulante (LORENZI, 2006).

Destaca-se então, que existe um aumento da quantidade total de líquido circulante na gestação e não há diminuição do número de eritrócitos, nem da hemoglobina totais, sendo que os resultados do hemograma acabam por ser falsos em se tratando de uma anemia propriamente dita, caracterizando-se por uma pseudoanemia (SCHOLL & HEDIGER, 2002).

O aumento do volume plasmático é importante para suprir as necessidades do feto que se desenvolve no útero, e estudos demonstram que gestantes com volemia inalterada ou pouco aumentada no período da embriogênese, têm fetos com restrição de crescimento intra-útero, verificando-se uma íntima correlação entre a expansão do volume plasmático e o peso fetal (DUVEKOT *et al.*, 1995).

Outro fator que está diretamente ligado a uma diminuição nos níveis de hemoglobina e de eritrócitos é a falta do íon ferro, o que também pode provocar uma anemia (SOUZA *et al.*, 2002). Fêmeas já apresentam menores taxas de ferro que machos, e durante a gravidez o aumento do feto está associado com a inadequada nutrição de ferro, pois a demanda nesse período aumenta significativamente (SCHOLL & HEDIGER, 2002; JAIN, 1993). Resultados de gravidez adversa parecem ter conexão com a deficiência de ferro e anemia provocada por essa deficiência, incluindo retardo no desenvolvimento intrauterino, parto prematuro e comprometimento hematológico do infante (RASMUSSEN, 2001). Nosso trabalho não realizou a dosagem de ferro circulante nos períodos reprodutivos, mas vale ressaltar, que foi destinado ao final de cada coleta um suplemento de sulfato ferroso (1mL/animal), que segundo GREIG *et al.* (2006) nem mesmo seria necessário, pois as condições hematológicas voltariam ao normal dentro de 24 horas em sagüis, fora do período gestacional. Ainda destacamos que todos os sagüis nascidos foram pesados e medidos e apresentaram valores de crescimento normais.

Os valores da leucometria global e dos índices hematimétricos VCM e CHCM não mostraram diferença significativa comparativamente entre os grupos estudados. Isso pode ser visto nos Gráficos 18 a 20.

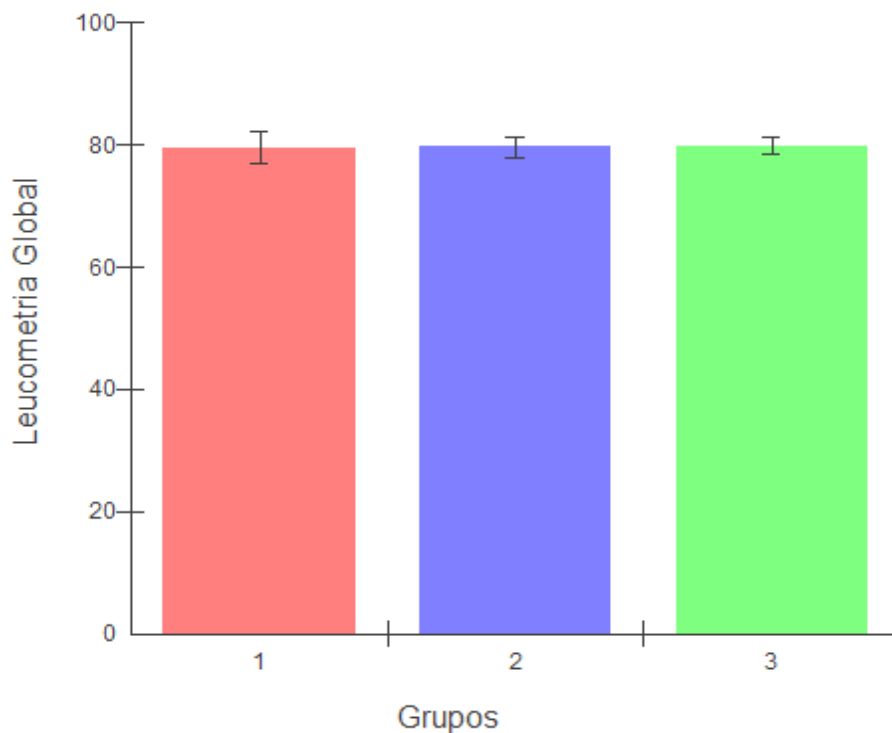


Gráfico 18. Histograma comparativo dos valores da leucometria global de *Callithrix penicillata* durante os períodos estudados. Grupo 1 = Não-gestantes; Grupo 2 = Gestantes; Grupo 3 = Lactantes. Valores dados em média \pm erro padrão ($10^6 \times \text{mm}^3$).

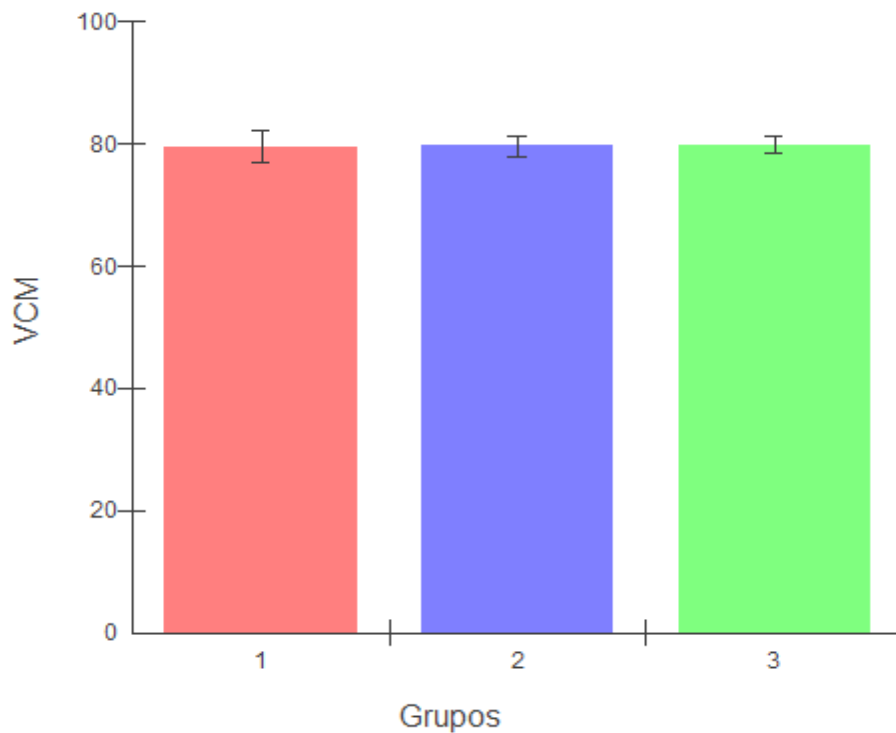


Gráfico 19. Histograma comparativo dos valores do Volume Corpuscular Médio de *Callithrix penicillata* durante os períodos estudados. Grupo 1 = Não-gestantes; Grupo 2 = Gestantes; Grupo 3 = Lactantes. Valores dados em média \pm erro padrão ($10^6 \times \text{mm}^3$).

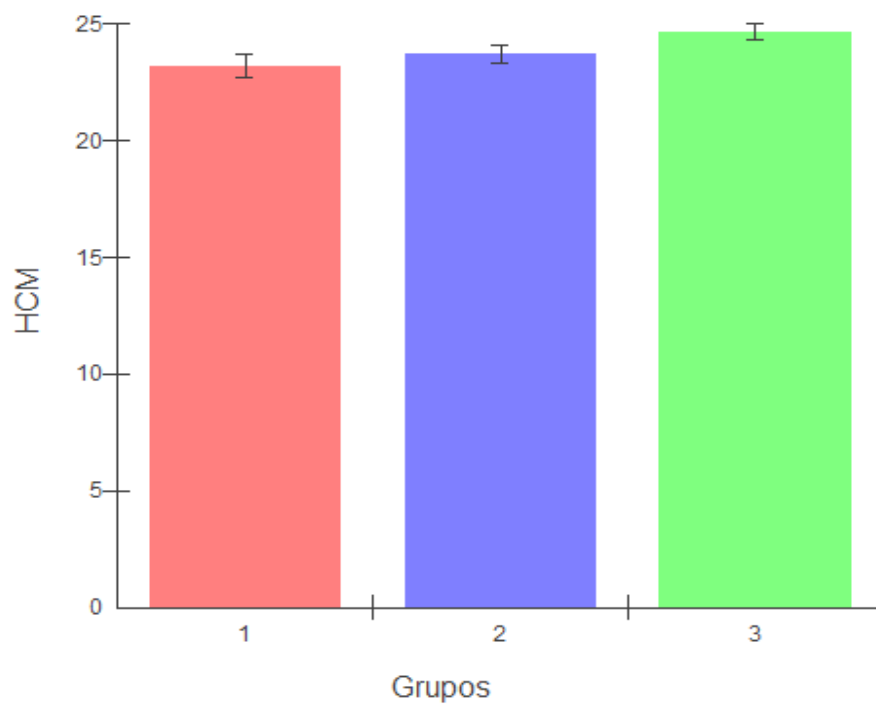


Gráfico 20. Histograma comparativo dos valores da Hemoglobina Corpuscular Média de *Callithrix penicillata* durante os períodos estudados. Grupo 1 = Não-gestantes; Grupo 2 = Gestantes; Grupo 3 = Lactantes. Valores dados em média \pm erro padrão ($10^6 \times \text{mm}^3$).

O índice hematimétrico CHCM apresentou uma elevação estatisticamente significativa durante o período lactacional, quando comparado ao período de gestação (Gráfico 21). Ele também foi maior quando comparado com o grupo das fêmeas não-gestantes, porém essa comparação não representou diferença significativa.

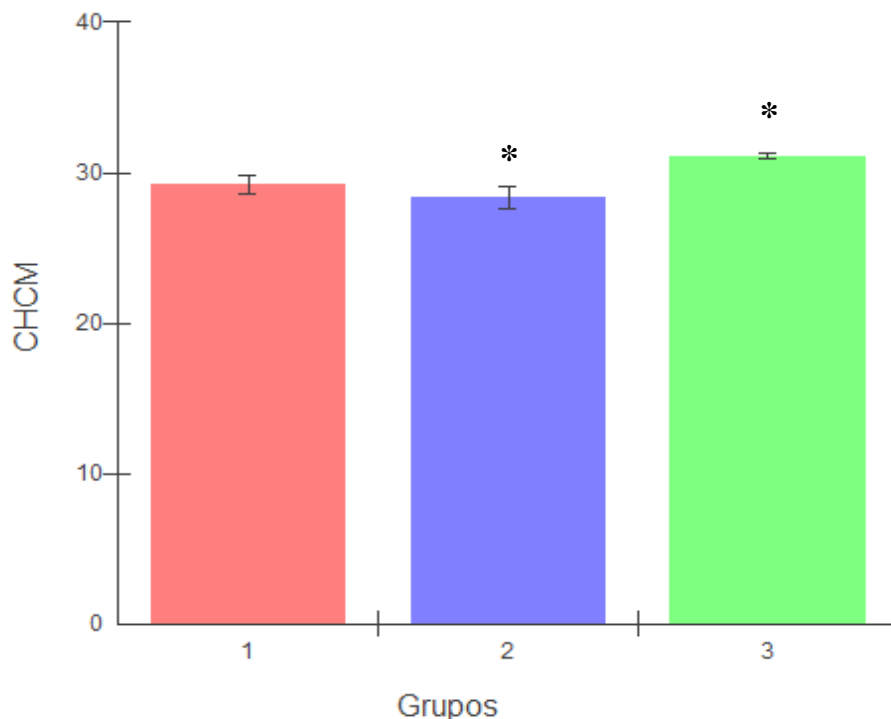


Gráfico 21. Histograma comparativo dos valores da Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média de *Callithrix penicillata* durante os períodos estudados. Grupo 1 = Não-gestantes; Grupo 2 = Gestantes; Grupo 3 = Lactantes. Valores dados em média ± erro padrão ($10^6 \times \text{mm}^3$). * $p \leq 0,05$.

Os índices hematimétricos sofrem alterações de acordo com os valores de hemoglobina, hematócrito e do número de eritrócitos. Isso é devido à utilização dessas medidas para o cálculo dos índices. O cálculo do índice CHCM, por exemplo, que sofreu alteração significativa entre período gestacional e o lactacional, é calculado eletronicamente com base nos valores de VCM e HCM, que utilizam o hematócrito e o número de hemácias; e a hemoglobina e o número de hemácias, respectivamente, para encontrar suas medidas.

Apesar de não ter sido realizada a estatística da contagem diferencial dos leucócitos, o Gráfico 22, que trás a porcentagem de cada célula leucocitária por grupo estudado, parece indicar uma tendência a normalidade, não diferindo entre os grupos.

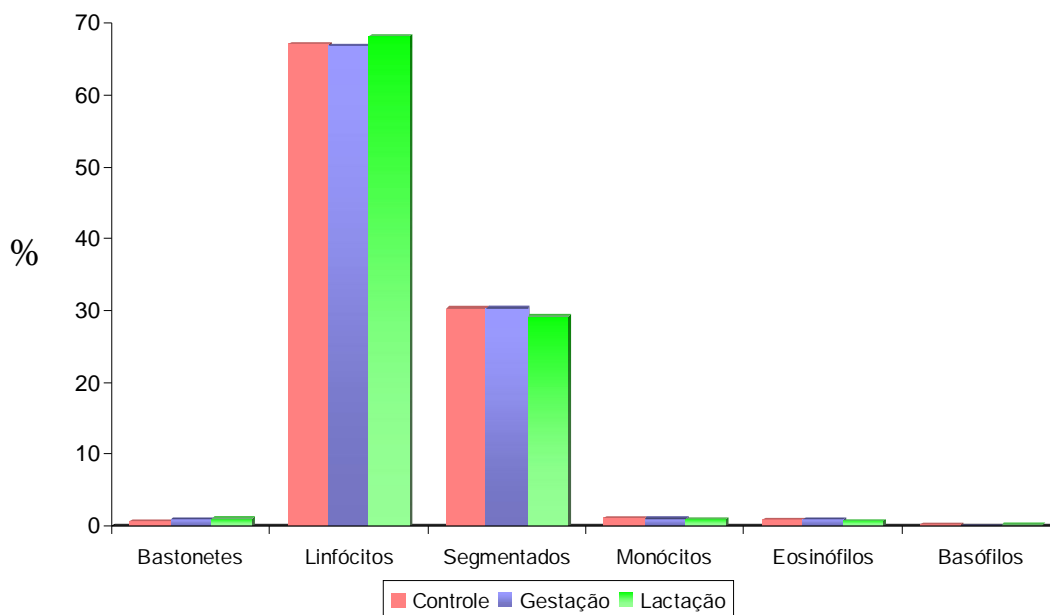


Gráfico 22. Contagem diferencial de leucócitos em fêmeas de *Callithrix penicillata* nos diferentes grupos estudados. Valores dados em média das porcentagens para cada tipo celular.

O presente estudo demonstra que existem diferenças significativas em alguns parâmetros hematológicos maternos de *C. penicillata* em cativeiro, e destaca a importância de se ter referências separadas para animais em período gestacional, lactacional ou fora desses dois períodos para a interpretação dos resultados científicos obtidos com essa espécie.

Além disso, essas referências devem ser específicas por criatório e sob os mesmos protocolos, uma vez que animais criados em regiões diferentes e cálculos hematológicos obtidos por diferentes formas de análise apresentaram diferença entre os relatos da hematologia dos sagüis.

Os dados obtidos nesse trabalho permitem um avanço no entendimento da hematologia dos sagüis, que ainda necessitam de muita pesquisa no que se refere a essa espécie, que possui uma deficiência de literatura específica nos assuntos abordados nesse estudo.

A determinação do padrão hematológico para os animais do cativeiro do CBR-UFJF é um importante auxílio para a utilização dos sagüis-de-tufos-pretos na pesquisa científica, e deverá ser completado com a análise de sinais clinicamente significativos e biologicamente relevantes.

5. CONCLUSÕES

Dos parâmetros hematológicos abordados, os valores da hematimetria, do hematócrito e dos índices hematimétricos VCM, HCM e CHCM desse trabalho apresentaram diferença significativa em relação aos trabalhos encontrados na literatura, que foram realizados em outras regiões geográficas e/ou utilizando de diferentes metodologias.

Fêmeas em período gestacional apresentam diminuição significativa nos valores de hematimetria, hemoglobinometria e hematócrito quando comparadas às fêmeas não-gestantes.

Fêmeas lactantes apresentaram CHCM estatisticamente maior que fêmeas gestantes.

Os valores da leucometria global, VCM e HCM não diferem significativamente entre os períodos estudados.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, D.H.; BARRETT, J. & GEORGE, L.M. 1993. Comparative aspects of the social suppression of reproduction in female marmosets and tamarins, p. 152-163. In: RYLANDS, A.B. (Ed.). **Marmosets and Tamarins: Systematics, Behaviour and Ecology**. Oxford, Oxford University Press, 396p.

ANDRADE, M.C.R. 2002. Criação e manejo de primatas não-humanos, p. 143-154. In: ANDRADE, A.; PINTO, S.C. & OLIVEIRA, R.S. (Orgs.). **Animais de Laboratório – criação e experimentação**. 1 ed. Rio de Janeiro, Editora Fiocruz, 387p.

ANGULO, I.L. 2008. **Interpretação do hemograma - Clínica e laboratorial - Hemocentro de Ribeirão Preto**. Disponível na World Wide Web em: <http://pegasus.fmrp.usp.br/educacao/anemias/interpdohemo.pdf> [05 jan 2008].

BARINO, G.T.M.; GUERRA, M.O. & PETERS, V.M. 2006. **Biometria de *Callithrix penicillata* desde o nascimento até os quatrocentos dias de vida**. Resumo apresentado no XXVI Congresso Brasileiro de Zoologia, Londrina.

BARINO, G.T.M.; PINTO, R.M.; GUERRA, M.O.; PETERS, V.M. & ARAÚJO, D.A.C. 2007. Perfil reprodutivo de *Callithrix penicillata* em cativeiro, p. 511-519. In: Bicca-Marques, J.C. (Ed.). **A Primatologia do Brasil**. 10 ed. Porto Alegre, Sociedade Brasileira de Primatologia, 563p.

BENNET, J.S.; GOSSET, K.A.; MCCARTHY, M.P. & SIMPSON, E.D. 1992. Effects of ketamine hydrochloride on serum biochemical and hematologic variables in Rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). **Veterinary Clinical Pathology**, **21** (1): 15-18.

BICCA-MARQUES, J.C.; SILVA, V.M & GOMES, D.F. 2006. Ordem Primates, p. 101-148. In: REIS, N.R.; PERACCHI, A.L.; PEDRO, W.A. & LIMA, I.P. (Eds.) **Mamíferos do Brasil**. Londrina, Sociedade Brasileira de Zoologia, 437p.

BIRGEL, E.H. 1982. Hematologia clínica veterinária, p. 2-34. In: BIRGEL, E.H. & BENESI, F.J. **Patologia Clínica Veterinária**. São Paulo, Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, 260p.

BOERE, V. 2001. Environmental enrichment for neotropical primates in captivity. **Ciência Rural**, Santa Maria, **31** (3): 543-551.

BOERE, V.; PALUDOB, G.R.; PIANTA, T.; CANALE, G. & TOMAZ, C. 2003. Effects of novelty, isolation stress, and environmental enrichment on some haematological parameters in marmosets (*Callithrix penicillata*). **The International Journal of Veterinary Medicine**, Cheshire. Disponível na World Wide Web em: <http://www.priory.com/vet/marmoset.htm> [28 abril 2007].

BOERE, V.; PINHEIRO, E.C.; OLIVEIRA, E SILVA, I.; PALUDO, G.R.; CANALE, G.; PIANTA, T.; WELKER, A. & ROCHA DE MOURA, R.C. 2005. Comparison between sex and age class on some physiological, thermal, and hematological índices of the cerrado's marmoset (*Callithrix penicillata*). **Journal of Medical Primatology**, **34**: 156-162.

BOTTI, C.A.H; CONDE, E.S. & FILHO, H.D.M.C. 2007. **Anuário estatístico de Juiz de Fora**. Disponível na World Wide Web em: <http://www.pjf.mg.gov.br/cidade/anuario2007/anuario%20layout/basededados.htm> [10 nov 2007].

BURKART, J.M.; & HESCHL, A. 2007. Understanding visual access in common marmosets, *Callithrix jacchus*: perspective taking or behaviour reading? **Animal Behaviour**, **73** (3): 457-469.

CANAVESSI, A.M.O.; CHIACCHIO, S.B.; SARTORI, R. & CURY, P.R. 2000. Valores do perfil eletroforético das proteínas séricas de bovinos da raça nelore (*Bos indicus*) criados na região de Botucatu, São Paulo: Influência dos fatores etários e sexuais. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, **67** (1). Disponível na World Wide Web em: http://www.biologico.sp.gov.br/ARQUIVOS/V67_1/eletroforese.htm [18 jan 2008].

CARVALHO, A.C.T.; CISALPINO, P.S.; CISALPINO, E.O.; PEREIRA, L.H. & MELO, A.L. 1991. Estudos da microbiota intestinal do mico-estrela, (*Callithrix penicillata*) em diferentes estágios de lactação, pp. 103-110. In: A.B. RYLANDS & A.T. BERNARDES, (Eds.). **A Primatologia do Brasil 3**. Belo Horizonte, Sociedade Brasileira de Primatologia, 459p.

CHAGAS, A.C.S.; PIEMONTE, D.V. & RAPOSO-FILHO, J.R. 1999. Observações comportamentais de *Callithrix penicillata* (Geoffroy, 1912) (Callitrichidae: Primates) na Reserva Biológica Santa Cândida em Juiz de Fora - MG. **Bioscience Journal**, **15** (2): 25-33.

CUNHA, M.S.; LOPES, D.R. & SOUSA, M.B.C. 2005. Variação na contagem de leucócitos em *Callithrix jacchus* (Linnaeus, 1758) submetidos a uma situação de estresse agudo. **Revista Brasileira de Zoociências**, **7** (2): 217-229.

DAVY, M.W.; JACKSON, M.R. & WALKER, J. 1984. Reference intervals for some clinical chemical parameters in the marmoset (*Callithrix jacchus*): effect of age and sex. **Laboratory Animals**, **18** (2): 135-142.

DE NEEF, K.J.; NIEUWENHUIJSEN, K.; LAMMERS, A.J.J.C.; DEGEN, A.J.M. & VERBON, F. 1987. Blood variables in adult stump-tail macaques (*Macaca arctoides*) living in a captive group: annual variability. **Journal of Medical Primatology**, **16**: 237-247.

DIAS-JUNIOR, R.F.; BRACARENSE, A.P.F.R.L.; MARÇAL, W.S.; ROCHA, M.A. & DIAS, R.C.F. 2006. Valores de referência e influência da idade no eritrograma de fêmeas bovinas da raça Aquitânica. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, **58** (3): 311-315.

DINIZ, L.S.M. 1997. **Primatas em cativeiro – Manejo e problemas veterinários**. São Paulo, Ícone Editora, 196p.

DUVEKOTT, J.J., CHERIEX, E.C., PIETERS, F.A. 1995. Maternal volume homeostasis in early pregnancy in relation to fetal growth retardation. **Obstetrics & Gynecology**, 85: 361–367.

FAILACE, R. 2003. **Hemograma: Manual de interpretação**. 4 ed. Porto Alegre, Artemed, 298p.

FAILACE, R. & PRANKE, P. 2004. Avaliação dos critérios de liberação direta dos resultados de hemogramas através de contadores eletrônicos. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, 26 (3): 159-166.

FERRARI, S.F.; CORRÊA, H.K.M. & COUTINHO, P.E.G. 1996. Ecology of the “southern” marmosets (*Callithrix aurita* and *Callithrix flaviceps*): How different, how similar?, p. 157-171. In: NORONK, M.A.; ROSENBERGER, A.L. & GARBER, P.A. (Ed.). **Adaptative radiations of neotropical primates**. New York: Plenum Press, 555p.

FILHO, A. 1970. Leucograma de bovinos nacionais e estrangeiros com vistas ao estudo da leucose. **O Biológico**, 37: 181-184.

FLAIBAN, K.K.M.C. 2006. **Valores hematológicos de macacos-prego (*Cebus cay* e *Cebus nigritus*) e bugios pretos (*Alouatta caraya*) de vida livre da região do Alto do Paraná, Sul do Brasil**. Dissertação de Mestrado em Ciência Animal, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 62p.

GOMES, D.F. & BICCA-MARQUES, J.C. 2003. Reprodução de *Callithrix jacchus* (LINNAEUS, 1758), *Callithrix penicillata* (É. GEOFFROY, 1812) e *Leontopithecus chrysomelas* (KUHLE, 1820) (Primates: Cebidae: Callitrichinae) em cativeiro no Brasil. **Comunicações do Museu de Ciências e Tecnologia da PUCRS**, Porto Alegre, 16 (2): 249-254.

GREIG, I.; MORRIS, K.D.; MATHIESEN, E.; MATHIESEN, R. & BUCHANAN-SMITH, H.M. 2006.

An improved restraint device for injections and collection of samples from marmosets. **Laboratory Primate Newsletter**, **45** (2): 1-5.

HASSIMOTO, H.; HARADA, T. & HARADA, T. 2004. Changes in hematology, biochemical values, and restraint ECC of Rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) following 6-month laboratory acclimation. **Journal of Medical Primatology**, **33**: 175-186.

HAVILL, L.M.; SNIDER, C.L.; LELAND, M.M.; HUBBARD, G.B.; THERIOT, S.R. & MSHSNEY, M.C. 2003. Hematology and blood biochemistry in infant baboons (*Papio hamadryas*). **Journal of Medical Primatology**, **32**: 131-138.

HERNÁNDEZ-LÓPEZ, L.; UMLAND, N.; MONDRAGÓN-CEBALLOS, R. & NAYUDU, P.L. 2005. Comparison of the effects of Percoll and PureSperm® on the common marmoset (*Callithrix jacchus*) semen. **Journal of Medical Primatology**, **34** (2), 86-90.

HIBINO, H.; TANI, K.; IKEBUCH, K.; WU, M.S.; SUGIYAMA, H.; NAKAZAKI, Y.; TANABE, T.; TAKAHASHI, S.; TOJO, A.; SUZUKI, S.; TANIOKA, Y.; SUGIMOTO, Y.; NAKAHATA, T. & ASANO, S. 1999. The common marmoset as target preclinical primate model for cytokine and gene therapy studies. **Blood**, **93** (9): 2839-2848.

HIRSCH, A.; DIAS, L.G.; MARTINS, L.DE O.; CAMPOS, R. F.; RESENDE, N. A. T. & LANDAU, E.C. 2002. **Database of Georeferenced Occurrence Localities of Neotropical Primates**. Departamento de Zoologia / UFMG, Belo Horizonte. Disponível na World Wide Web em: http://www.icb.ufmg.br/~primatas/home_bd_geoprim.htm [18 mar 2008].

IBAMA - INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. **Lista das 10 espécies mais apreendidas/recolhidas nos Centros de Triagem de Animais Silvestres do Brasil**. Disponível na World Wide Web em: http://www.ibama.gov.br/fauna/trafico/downloads/10_traficadas.pdf [20 jan 2008].

IBAMA/CPB - INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS/CENTRO DE PROTEÇÃO DE PRIMATAS BRASILEIROS. *Callithrix penicillata*. Disponível na World Wide Web em: http://www.ibama.gov.br/cpb/index.php?arquivo=detalhe.php&pg=0&id_cad_geral=102&id_menu=104 [20 jan 2008].

- JAIN, N.C. 1993. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia, Lea and Febiger, 417p.
- JUNQUEIRA, L.C. & CARNEIRO, J. 2004. **Histologia Básica**. 10 ed. Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan, 488p.
- KIM, C.Y.; LEE, H.S.; HAN, S.C.; HEO, J.D.; KWON, M.S.; HA, C.S. & HAN, S.S. 2005. Hematological and serum biochemical values in cynomolgus monkeys anesthetized with ketamine hydrochloride. **Journal of Medical Primatology**, **34**: 96-100.
- KINDLOVITS, A. 1999. **Clínica e terapêutica em primatas neotropicais**. Juiz de Fora, Editora UFJF, 259p.
- KOPPEN, W. 1900. Versuch einer klassifikation der klimate, vorzugsweise nach ihren beziehungen zur pflansenwelt. *Geographische Zeitschrift*, 6: 593–611, 657–679. In: BOTTI, C.A.H; CONDE, E.S. & FILHO, H.D.M.C. 2007. **Anuário estatístico de Juiz de Fora**. Disponível na World Wide Web em: <http://www.pjf.mg.gov.br/cidade/anuario2007/anuario%20layout/basededados.htm> [10 nov 2007].
- LARSSON, M.H.M.A.; BIRGEL, E.H.; BENESI, F.J.; BRIGEL JR., E.H.; LAZARETTI, P.; FEDULLO, J.D.L.; LARSSON JR., C.E.; MOLINA, S.R.; GUERRA, P.P.C.A. & PRADA, C.S. 1999. Hematological values of *Cebus apella* anesthetized with ketamine. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, **36** (3). Disponível na World Wide Web em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-95961999000300005&lng=pt&nrm=iso [15 jul 2006].
- LIBERATI, T.A.; SANSONE, S.R. & FEUSTON, M.H. 2004. Hematology and clinical chemistry values in pregnant Wistar Hannover rats compared with nonmated controls. **Veterinary Clinical Pathology**, **33** (2): 68-73.
- LOOMIS, M.R.; HENRICKSON, R.V.; ANDERSON, J.H. 1980. Effects of ketamine hydrochloride on the hemogram of rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). **Laboratory Animal Science**, **30** (5): 851-853.

LORENZI, T. F. 2006. **Manual de hematologia - propedêutica e clínica**. 4 ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 722p.

LURIE, S. & MAMET, Y. 2003. Caesarean delivery during maternal cardiopulmonary resuscitation for status asthmaticus. **Emergency Medicine Journal**, 20: 296-297.

MARTIN, D.P.; MCGOWAN, M.J. & LOEB, W.F. 1973. Age related changes of hematologic values infant *Macaca mulatta*. **Laboratory Animal Science**, 23 (2): 194-200.

MÄTZ-RENSING, K.; JENTSCH, K.D.; RENSING, S.; LANGENHUYZEN, S.; VERSCHOOR, E.; NIPHUIS, H.; KAUP, F.J. 2003. Fatal *Herpes simplex* Infection in a Group of Common Marmosets (*Callithrix jacchus*). **Veterinary Pathology**, 40: 405-411.

MCNEES, D.W.; LEWIS, R.W.; PONZIO, B.J.; SIS, R.F. & STEIN, F.J. 1984. Blood Chemistry of the Common Marmoset (*Callithrix jacchus*) maintained in an Indoor-outdoor Environment: Primate Comparisons. **Primates**, 25 (1): 103-109.

MCNEES, D.W.; PONZIO, B.J.; LEWIS, R.W.; STEIN, F.J. & SIS, R.F. 1982. Hematology of Common Marmosets (*Callithrix jacchus*). **Primates**, 23 (1): 145-150.

MELLO, M.F.V.; MONTEIRO, A.B.S.; FONSECA, E.C.; PISSINATTI, A. & FERREIRA, A.M.R. 2005. Identification of *Helicobacter* sp. in gastric mucosa from captive marmosets (*Callithrix* sp.; callitrichidae, primates). **American Journal of Primatology**, 66 (2): 111-118.

MICHAEL, K.S. & METCALFE, J. 1994. Maternal physiology during gestation, p. 947-983. In: KNOBIL, E. & NEILL, J.D. (Eds.) **The physiology of reproduction**. 2 ed. New York, Raven Press, 3250p.

MIRANDA, G.H.B. 1997. Observações preliminares sobre o padrão de atividade do mico-estrela (*Callithrix penicillata*) no cerrado denso e cerradão da Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF, p. 241-245. In: LEITE, L.L. & SAITO, C.H. (Eds.). **Contribuição ao conhecimento ecológico do Cerrado**. Universidade de Brasília, Departamento de Ecologia, 326p.

MIRANDA, G.H.B. & FARIA, D.S. 2001. Ecological aspects of black-pinellated marmoset (*Callithrix penicillata*) in the cerrado and dense cerrado of the Brazilian central plateau. **Brazilian Journal of Biology**, **61** (3): 397-404.

MOTA, M.T.S.; FRANCI, C.R. & CORDEIRO, M.B.S. 2006. Hormonal changes related to paternal and alloparental care in common marmosets (*Callithrix jacchus*). **Hormones and behavior**, **49** (3): 293-302.

MYTHILI, M.D.; VYAS, R.; PATRA, S.S.; NAIR, S.C.; AKILA, G.; SUJATHA, R. & GUNASEKARAN, S. 2005. Normal hematological indices, blood chemistry and histology and ultrastructure of pancreatic islets in the wild Indian Bonnet monkeys (*Macaca radiata radiata*). **Journal of Medical Primatology**, **34**: 35-40.

NAVARRO, C.E.K.G. 2005. **Manual de Hematologia Veterinária**. 2 ed. São Paulo, Varela Editora, 206p.

NAVES, E.A.; FERREIRA, F.A.; MUNDIM, A.V. & GUIMARÃES, E.C. 2006. Valores hematológicos de macaco-prego (*Cebus apella* - Linnaeus, 1758) em cativeiro. **Bioscience Journal**, **22** (2): 125-131.

PAIXÃO, R. L. 2001. Experimentação animal: razões e emoções para uma ética. Tese de Doutorado, **Fundação Oswaldo Cruz**, Escola Nacional de Saúde Pública, 189 p.

PAXTON, H. & BENDELE, T. 1993. Effect of time, temperature, and anticoagulant on flow cytometry and hematological values. **Annals of the New York Academy of Sciences**, **677**: 440-443.

PERRETTA G., VIOLANTE, A.; SCARPULLA, M.; BECIANI, M. & MONACO, V. 1991. Normal serum biochemical and hematological parameters in *Macaca fuscicularis*. **Journal of Medical Primatology**, **20**: 345-351.

PETERS, V.M. & GUERRA, M.O. 1998. Reproduction and maintenance of two species of marmoset in captivity. **Revista Brasileira de Biologia**, **58** (2): 169-173.

PETERS, V.M.; LESSA, W.D.D.A. & GUERRA, M.O. 2003. *Callithrix jacchus penicillata* blood count. **Boletim do Centro de Biologia da Reprodução**, **22**: 101-104.

RASMUSSEN, K.M. 2001. Iron-Deficiency Anemia: Reexamining the Nature and Magnitude of the Public Health Problem. **The Journal of Nutrition**, **131** (2): 697-701.

RIVIELLO, M.C. & WIRZ, A. 2001. Haematology and blood chemistry of *Cebus apella* in relation to sex and age. **Journal of Medical Primatology**, **30**: 308-312.

ROBEL, G.L.; LOCHMILLER, R.L.; MCMURRY, S.T. & QUALIS-JR., C.W. 1996. Environmental, age, and sex effects on cotton rat (*Sigmodon hispidus*) hematology. **Journal of Wildlife Diseases**, **32**(2): 390-394.

ROSA, D.S.; IWAI, L.K.; TZELEPIS, F.; BARGIERI, D.Y.; MEDEIROS, M.A.; SOARES, I.S.; SIDNEY, J.; SETTE, A.; KALIL, J.; MELLO, L.E.; CUNHA-NETO, E. & RODRIGUES, M.M. 2006. Immunogenicity of a recombinant protein containing the *Plasmodium vivax* vaccine candidate MSP1₁₉ and two human CD4⁺ T-cell epitopes administered to non-human primates (*Callithrix jacchus jacchus*). **Microbes and Infection**, **8** (8): 2130-2137.

RYLANDS, A.B.; COIMBRA-FILHO, A.F. & MITTERMEIER, R.A. 1993. Systematics, geographic distribution, and some notes on the conservation status of the Callitrichidae. p. 11-77. In: RYLANDS, A.B. (Ed.). **Marmosets and tamarins: systematics, behaviour and ecology**. New York, Oxford University Press, 396p.

RYLANDS, A.B. & FARIA, D.S. 1993. Habitats, feeding, and home range size in the genus *Callithrix*, p. 262-272. In: RYLANDS, A.B. (Ed.). **Marmosets and Tamarins: systematics, behaviour and ecology**. New York, Oxford University Press, 396p.

SANTOS, C.V.; MARTINS, M.M. 2000. Parental care in the buffy-tufted-ear marmoset (*Callithrix aurita*) in wild and captive groups. **Revista Brasileira de Biologia**, **60** (4): 667-672.

SCHOLL, T.O. & HEDIGER, M.L. 2002. Anemia and iron-deficiency anemia: compilation of data on pregnancy outcome. **The American Journal of Clinical Nutrition**, **59**: 492-501.

SMITH, T.F. & FRENCH, J.A. 1997. Social and Reproductive Conditions Modulate Urinary Cortisol Excretion in Black Tufted-Ear Marmosets (*Callithrix kuhli*). **American Journal of Primatology**, **42**: 253–267.

SMITH, R.J. & JUNGERS, W.L. 1997. Body mass in comparative primatology. **Journal of Human Evolution**, **32**: 523-559.

SMUCNY, D.A.; ALLISON, D.B.; INGRAM, D.K.; ROTH, G.S.; KEMNITZ, J.W.; KOHAMA, S.G.; LANE, M.A. & BLACK, A. 2004. Changes in blood chemistry and hematology variables during aging in captive rhesus macaques (*Macaca mulatta*). **Journal of Medical Primatology**, **33**: 48-54.

SON, V.D. 2002. Hematological values of *Macaca fascicularis* in a Mangrove Forest, Vietnam. **Laboratory Primate Newsletter**, Providence, **41** (4). Disponível na World Wide Web em: <http://www.brown.edu/research/primate/lpn41-4.html> [12 ago 2006].

SOUZA, A.I.; FILHO, M.B. & FERREIRA, L.O.C. 2002. Alterações Hematológicas na gravidez. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, **24** (1): 29-36.

STEVENSON, M.F. & RYLANDS, A.B. 1988. The marmosets, genus *Callithrix*, p. 131-222. In: MITTERMEIER, R.A.; RYLANDS, A.B.; COIMBRA-FILHO, A.F. & FONSECA, G.A.B. (Eds.). **Ecology and behavior of Neotropical primates**. 2 ed. World Wildlife Fund, Washington, 610p.

SUSSMAN, R.W. 2003. **Primate Ecology and social structure**. 2 ed. Needham Heights, Pearson Prentice Hall, 204p.

VIEIRA, S. 2004. **Bioestatística - Tópicos avançados**. 2 ed. Rio de Janeiro, Editora Campus, 16p.

VILELA, S.L. & FARIA, D.S. 2004. Seasonality of the activity pattern of *Callithrix penicillata* (Primates, Callitrichidae) in the cerrado (scrub savana vegetation). **Brazilian Journal of Biology**, **64** (2): 363-370.

VIVO, M. 1991. **Taxonomia de *Callithrix* Erxleben, 1777 (Callitrichidae, Primates)**. Belo Horizonte, Fundação Biodiversitas, 105p.

YAMAMOTO, M.E., BOX, H.O., ALBUQUERQUE, F.A., MIRANDA, M.F.A. 1996. Carrying behaviour in captive and wild marmosets (*Callithrix jacchus*): A comparison between two colonies and a field site. **Primates**, 37: 295 - 302.

YARBROUGH, L.W.; TOLLETT, J.L.; MONTREY, R.D. & BEATTIE, R.J. 1984. Serum biochemical, hematological, and body measurement data for common marmosets (*Callithrix jacchus jacchus*). **Laboratory Animal Science**, 34 (2): 276-280.

7. APÊNDICE

APÊNDICE A



Procedimento de coleta de sangue nos sagüis-de-tufos-pretos. Destaque para o suporte utilizado para a contenção dos animais.

APÊNDICE B

Valores hematológicos individuais das fêmeas de *C. penicillata* do grupo Controle (Fêmeas não-gestantes/não-lactantes).

Fêmea	Hemametria ($10^6/\text{mm}^3$)	Hemoglobinometria (g/dL)	Hematócrito (%)	Leucometria Global ($10^3/\text{mm}^3$)	VGM (fL)	HGM (pg)	CHGM (g/dL)
1	6,60	15,3	55,1	10,70	83	23	28
2	5,44	13,7	47,1	7,90	87	25	29
3	7,28	16,7	54,2	4,60	74	23	31
4	7,49	16,7	54,9	7,00	73	22	30
5	7,08	15,9	57,5	6,90	81	23	28

APÊNDICE C

Valores hematológicos de fêmeas de *C. penicillata* durante o período gestacional.

Semanas antes do parto	Hematimetria (10 ⁶ /mm ³)	Hemoglobina (g/dL)	Hematócrito (%)	Leucometria global (10 ³ /mm ³)	VCM (fL)	HCM (pg)	CHCM (g/dL)
01	5,69 ± 1,54	13,67 ± 3,67	43,50 ± 15,86	7,63 ± 2,58	74,67 ± 9,81	24,50 ± 1,76	30,83 ± 2,32
02	5,58 ± 1,45	13,17 ± 4,17	42,67 ± 13,82	8,07 ± 2,19	76,17 ± 7,83	23,83 ± 1,83	31,67 ± 3,98
03	6,11 ± 1,35	14,33 ± 4,27	48,33 ± 9,52	7,35 ± 2,32	76,33 ± 7,00	23,67 ± 1,63	29,67 ± 4,37
04	5,56 ± 1,49	12,33 ± 3,27	46,00 ± 13,70	7,72 ± 2,07	78,67 ± 6,86	23,50 ± 1,52	28,50 ± 4,28
05	5,54 ± 1,10	12,33 ± 4,50	44,83 ± 8,84	6,43 ± 1,61	79,50 ± 4,18	24,00 ± 0,89	28,33 ± 2,16
06	5,40 ± 1,01	9,83 ± 4,54	44,83 ± 8,54	7,98 ± 3,01	81,50 ± 9,79	23,00 ± 0,89	26,83 ± 3,97
07	4,70 ± 0,88	11,00 ± 2,19	44,17 ± 9,06	6,82 ± 2,03	77,00 ± 6,70	22,83 ± 1,94	25,50 ± 2,43
08	4,98 ± 0,83	10,80 ± 2,77	41,60 ± 8,90	7,96 ± 1,88	86,00 ± 8,75	23,80 ± 1,92	27,80 ± 1,10
09	4,73 ± 0,81	10,00 ± 1,41	40,40 ± 6,35	6,70 ± 1,70	82,20 ± 4,76	24,80 ± 0,84	28,00 ± 0,71
10	5,20 ± 0,87	12,00 ± 1,73	46,33 ± 3,21	8,52 ± 3,82	90,33 ± 13,65	23,67 ± 1,53	26,00 ± 3,00

Valores dados em média ± desvio padrão. VCM = Volume Corpuscular Médio; HCM = Hemoglobina Corpuscular Média; CHCM = Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média. Semana 01 a 07 (n=6); semanas 08 e 09 (n=5) e semana 10 (n=3).

APÊNDICE D

Valores hematológicos de quatro fêmeas de *C. penicillata* durante o período lactacional.

Semana pós-parto (n=4)	Hematimetria ($10^6/\text{mm}^3$)	Hemoglobina (g/Dl)	Hematócrito (%)	Leucometria global ($10^3/\text{mm}^3$)	VCM (fL)	HCM (pg)	CHCM (g/dL)
0	5,89 ± 1,25	14,00 ± 3,16	47,75 ± 14,20	7,93 ± 2,13	84,25 ± 4,79	24,50 ± 0,58	29,25 ± 1,71
01	5,75 ± 1,00	14,00 ± 2,71	42,75 ± 8,34	7,40 ± 2,49	75,75 ± 0,96	24,75 ± 1,26	32,50 ± 1,29
02	6,37 ± 0,97	15,50 ± 2,52	52,25 ± 11,82	6,95 ± 1,70	81,50 ± 8,10	24,25 ± 0,96	30,25 ± 2,63
03	6,05 ± 0,35	14,75 ± 1,50	45,75 ± 4,03	6,23 ± 2,36	76,00 ± 3,74	24,75 ± 0,96	32,50 ± 2,65
04	5,93 ± 0,31	14,25 ± 1,26	46,25 ± 5,32	7,00 ± 2,16	78,50 ± 5,45	24,25 ± 1,50	31,50 ± 1,29
05	5,95 ± 0,73	14,50 ± 2,08	44,25 ± 5,06	6,55 ± 1,49	75,00 ± 2,94	24,50 ± 0,58	32,75 ± 0,96
06	5,92 ± 0,55	15,00 ± 1,15	47,00 ± 7,39	6,80 ± 1,68	79,00 ± 7,35	25,00 ± 0,00	32,00 ± 2,94
07	5,64 ± 0,27	14,00 ± 0,82	45,25 ± 3,86	7,43 ± 2,68	80,00 ± 6,88	24,75 ± 1,26	31,25 ± 1,71
08	5,57 ± 0,37	14,00 ± 1,41	45,50 ± 4,04	7,25 ± 0,87	82,00 ± 7,62	25,50 ± 1,00	31,00 ± 2,71
09	5,79 ± 0,36	14,25 ± 1,26	47,25 ± 7,41	7,05 ± 2,98	81,50 ± 8,85	25,00 ± 0,82	31,00 ± 2,31
10	5,80 ± 0,62	14,25 ± 1,71	46,75 ± 4,79	7,88 ± 2,11	81,00 ± 3,46	24,50 ± 1,29	30,25 ± 0,50
11	5,83 ± 0,49	14,25 ± 1,50	48,75 ± 3,30	8,80 ± 2,62	84,00 ± 2,45	24,25 ± 0,50	29,00 ± 1,41

Valores dados em média ± desvio padrão. VCM = Volume Corpuscular Médio; HCM = Hemoglobina Corpuscular Média; CHCM = Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média.

Comparação entre as médias dos valores hematológicos de fêmeas de *C. penicillata* não gestantes, em período gestacional e em período lactacional.

Parâmetro hematológico	Medida	Média ± Erro padrão		
		1 - Não-gestantes	2 - Período gestacional	3 - Período lactacional
Hematimetria	10 ⁶ /mm ³	6,78 ± 0,37 ^{*1,2}	5,32 ± 0,37	5,87 ± 0,06
Hemoglobinometria	g/dL	15,66 ± 0,56 ^{*1,2}	11,82 ± 1,22	14,40 ± 0,33
Hematócrito	%	53,76 ± 1,76 ^{*1,2}	43,94 ± 3,7	46,63 ± 1,02
Leucometria global	10 ³ /mm ³	7,42 ± 0,98	7,37 ± 0,83	7,27 ± 0,96
VCM	fL	79,60 ± 2,68	79,66 ± 1,77	79,88 ± 1,40
HCM	pg	23,20 ± 0,49	23,71 ± 0,39	24,67 ± ,32
CHCM	g/dL	29,20 ± 0,58	28,30 ± 0,39 ^{*2,3}	31,10 ± 0,21

VCM = Volume Corpuscular Médio; HCM = Hemoglobina Corpuscular Média; CHCM = Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média. * p ≤ 0,05. Números posteriores aos asteriscos correspondem aos grupos em que ocorreu diferença significativa – teste de Dunnet.