

Relatório Final de Estágio
Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

A HEMOCROMATOSE NOS DAMÕES

Stéphanie Mathilde de Oliveira Taghli

Orientador

Prof. Dr. Paulo Vaz-Pires

Co-Orientador

Dr. Alexis Maillot

Relatório Final de Estágio
Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

A HEMOCROMATOSE NOS DAMÕES

Stéphanie Mathilde de Oliveira Taghli

Orientador

Prof. Dr. Paulo Vaz-Pires

Co-Orientador

Dr. Alexis Maillot

Resumo

Durante 16 semanas estagiei no “Parc Zoologique d’Amnéville”, dedicando especial atenção sobre a área de pesquisa que me foi proposta pelo veterinário principal do zoo (co-orientador). O tema desenvolvido debruçava-se no estudo dos damões e mais particularmente, numa das suas doenças, a hemocromatose.

Os damões são animais ainda pouco conhecidos. Em particular, o género damão dos rochedos está cada vez mais presente em numerosos parques zoológicos do mundo inteiro. É importante conhecer bem esta espécie e as diferentes patologias que podem desenvolver, para assim melhorar as condições de cativeiro. Trata-se de uma espécie que se reproduz bem em cativeiro. Então, para levar a cabo eventuais projectos de conservação, deve-se tentar compreender o modo de vida e o metabolismo deste animal. Assim pode-se aproximar cada vez mais as condições de cativeiro do seu habitat natural.

Após uma breve introdução, onde apresento alguns exemplos de actividades externas ao tema principal, as quais assisti durante o estágio, descrevo os resultados das minhas pesquisas.

O objectivo deste estudo é apresentar uma das patologias menos conhecidas e uma das mais comumente observadas nos damões em cativeiro: a hemocromatose.

Na primeira parte, apresento a espécie *Procavia capensis*. Primeiro, dou informações gerais sobre os damões na natureza, e depois, informações sobre os damões em cativeiro.

Na segunda parte, abordo o tema, hemocromatose, ou seja uma sobrecarga patológica de ferro nas células que se torna tóxica para o organismo. Começo por descrever o metabolismo do ferro nos Mamíferos, assim como as recentes descobertas sobre a hepcidina (molécula de regulação do metabolismo do ferro). Depois, apresento a hemocromatose nos animais de um modo geral. Finalmente, tento analisar os casos clínicos do “Parc Zoologique d’Amnéville” relativos aos damões mortos de uma hemocromatose.

Agradecimentos

Agradeço ao meu orientador Professor Doutor Paulo Vaz-Pires, pela sua disponibilidade, pelos seus conselhos, acompanhamento, simpatia, ajuda e apoio.

Agradeço ao “Parc Zoologique d’Amnéville” por me ter acolhido e mais particularmente ao meu co-orientador Dr. Alexis Maillot. Agradeço igualmente a toda a equipa do zoo com a qual trabalhei.

Agradeço a Professora Doutora Paula Proença, pela sua ajuda e pelo seu grande apoio.

Agradeço ao Professor Doutor Paulo Costa pela sua ajuda e compreensão.

Agradeço aos meus restantes Professores, pela dedicação e pela transmissão dos seus conhecimentos, assim como me mostrarem diferentes visões da profissão veterinária.

Agradeço ao Sr. Frias pela sua amizade e pelo seu apoio.

Agradeço a Paula Macieira, por ser uma grande amiga que está sempre presente.

Agradeço ao Mathieu, pela sua grande amizade, e por ter sido incansável comigo.

Agradeço à minha mãe, ao meu irmão, a minha avó e ao meu avô por terem estado sempre presente, pelo seus apoios e sacrifícios e por ter me permitido realizar o meu sonho.

Agradeço a Dona Sara, ao Sr. César e à Tina por me ter considerado família desde início e me ter apoiado durante todo o meu curso.

Agradeço ao meu namorado Paulo por ter estado sempre ao meu lado, mesmo nos momentos mais difíceis e ter sempre acreditado em mim.

Abreviaturas

im – Intramuscular

P – Peso

I – Incisivo

C – Canino

PM – Pré-molar

rpm – respirações por minuto

bpm – Batimentos por minutos

ADN – Ácido desoxirribonucleico

SER – Sistema retículo-endotelial

Dcytb – *Duodenal cytochrome b-like ferrireductase*

DMT1 - *Divalent metal transporter 1*

FNLT – Ferro não ligado à transferrina

LIP – *pool* de ferro lábil intracelular

ACD – *Anemia of Chronic Disease*

IL – *Interleucina*

TIBC – *Total iron binding capacity*

RIA – *Radio-Imuno Assay*

DFO – Deferoxamina

sc – subcutânea

po – *per os*

AST – Aspartato- amino Transferase

ALT – Alanina-amino Transferase

ISIS – *International Species Informations System*

Índice geral

Introdução.....	1
Primeira Parte: Damões dos rochedos.....	4
I - Descrição da espécie.	4
Observações gerais sobre a ordem <i>Hyracoidea</i>	4
Comportamento.....	6
Alimentação	7
Reprodução.....	7
II - Os damões em cativeiro.	7
Dados biológicos.....	8
Alimentação	8
Segunda Parte: A Hemocromatose.....	9
I - Metabolismo do ferro nos mamíferos	9
Introdução.....	9
O sistema retículo-endotelial.....	10
Absorção digestiva do ferro	10
Mecanismos de importação e de exportação do ferro	11
Homeostase do ferro a nível celular.....	12
Homeostase do ferro a nível do organismo.....	12
II - Hepsidina e patologias do ferro.	13
Hepsidina	13
Acção da hepcidina	13
Inflamação e hepcidina.....	13
III - Hemocromatose.....	14
Introdução.....	14
Causas e consequências.....	14
Sintomas.....	15
Diagnósticos.....	16
Tratamento e prevenção.	16
Alimentação e sobrecarga de ferro.....	17
IV - A hemocromatose nos Damões.....	18
Introdução.....	18

<i>Grasshenema procavia</i>	19
Estudo dos casos do “Parc Zoologique d’Amnéville”	19
Caso nº1: PC004.....	20
História.....	20
Relatório de necrópsia.	20
Histopatologia.....	21
Caso nº2: PC005.....	21
História.....	21
Relatório de necrópsia	22
Histopatologia.....	23
Caso nº3: PC006.....	23
História.....	23
Relatório de necrópsia	24
Histopatologia.....	24
Discussão	24
V - Conclusão	27
Bibliografia.....	28

Introdução

O estágio decorreu no “ Parc Zoologique d’Amnéville” em França de 6 de Outubro de 2008 até 23 de Janeiro de 2009. Durante este período, foram acompanhados os dois veterinários do zoo nos seus trabalhos quotidianos. Para além do trabalho quotidiano, o co-orientador, o veterinário principal do parque zoológico (“zoo”), propôs trabalhar sobre um tema durante todo o meu estágio, “A hemocromatose nos damões dos rochedos”. De facto, é uma doença pouco conhecida, que começa a surgir em muitos Parques zoológicos e que engloba numerosas espécies (lemurianos, morcegos, aves, rinocerontes, etc.). A hemocromatose parece só aparecer nos animais em cativeiro, e já começou a ser estudada para algumas espécies (aves). Durante os anos precedentes, houve no zoo um certo número de damões mortos devido a hemocromatose. Sabe-se muito pouco sobre esta doença nos damões. Pretendia-se então que fossem efectuadas pesquisas para encontrar as causas desta doença, assim como um possível tratamento. Na parte menos prática do trabalho, foram estudados os dados do zoo relativamente aos damões, e foram procuradas referências bibliográficas sobre o metabolismo do ferro que é bastante mal conhecido. Este relatório consiste então na apresentação dos resultados das pesquisas sobre este tema.

Mas antes de detalhar o estudo deste tema, são brevemente apresentados alguns exemplos marcantes do trabalho dos veterinários aos quais foi possível assistir.

✓ No dia 10 de Novembro de 2008, o tratador de Teny, um rinoceronte branco, macho de quase 40 anos, verificou um corrimento nasal muito abundante há 24h. Tratava-se de um líquido branco, transparente, que corria abundantemente, sobretudo quando ele baixava a cabeça, e isto acontecia após a ingestão de alimento. A comida saía quase instantaneamente pelas narinas, sem ter sido engolida. Foi realizada uma análise sanguínea, colhida na veia auricular (face externa do pavilhão). Foi colhida uma amostra do corrimento nasal e enviada para realização de análises bacteriológicas e físico-químicas. O feno da alimentação deste animal estava degradado, de má qualidade, tinha mau cheiro, estava provavelmente contaminado por micotoxinas e/ou fungos, talvez na origem de uma hipersalivação. Os sintomas evocavam um caso de obstrução esofágica, como é muitas vezes descrito em cavalos. Tentou-se um tratamento médico através de um anti-espasmódico. Decidiu-se que, se no dia seguinte não houvesse melhoras, então teria de se prever uma anestesia de urgência para uma endoscopia. No dia 13 de Novembro de 2008, pela manhã, o estado geral de Teny parece ter melhorado. Está de pé, a comer o feno com apetite. No entanto, 7 a 8 minutos depois da ingestão, saía o conteúdo alimentar pelas narinas, e ainda tinha hipersalivação. Foi

programada uma anestesia geral para o mesmo dia, à noite, para realização da endoscopia. Durante a tarde, o Teny salivou muito, mesmo tendo recebido atropina. A intervenção realizou-se durante a noite, mas infelizmente ele morreu pouco tempo depois de ter começado a endoscopia esofágica. No entanto, a intervenção foi prosseguida para diagnosticar a existência ou não de uma obstrução esofágica. Não se encontrou conteúdo alimentar na traqueia, mas havia feno compactado logo na entrada do esófago e até pelo menos 1,3 m (tamanho do endoscópio). A necrópsia realizada no dia seguinte, durante todo o dia, revelou uma enorme obstrução esofágica, um estômago e um intestino delgado vazios, um ceco e um intestino grosso impactados. Pôs-se a hipótese de uma paralisia do trato digestivo, mas esta foi impossível de verificar.

✓ A gripe aviária é uma doença cujo risco de transmissão ao homem não é desprezável, e por isso a vacinação de todas as aves do zoo é obrigatório. A primeira parte da campanha de vacinação contra a influenza aviária foi realizada no “Parc Zoologique d’Amnéville” do 15 de Dezembro de 2008 até 18 de Dezembro de 2008 inclusive, para um total aproximativo de 500 aves. A injeção da vacina foi efectuada via im, no peito, do lado direito. A vacina utilizada é inactiva Nobilis® H₅N₂ (Intervet) e a vacinação foi realizada segundo o protocolo seguinte (peso = P):

-P < 1,4 kg = 0,25 mL

- 1,4 kg <P< 7 kg = 0,5 mL

-7 kg <P< 12 kg = 0,75 mL

- Pelicano = 1 mL.

✓ Uma fêmea de *Buteo regalis* foi operada em Julho de 2008 ao pé esquerdo e em Agosto de 2008 ao pé direito a um problema de podagra. Em Novembro de 2008, foi operada pela terceira vez aos dois pés, dado o agravamento das lesões. Foi também realizada uma biópsia durante a cirurgia, o que permitiu saber que o agente infeccioso era resistente ao antibiótico utilizado desde início (Julho de 2008). Os cuidados pós-operatórios da última cirurgia foram mais eficazes, porque permitiam um apoio mínimo das lesões sobre o chão (Fig. 1).



Fig.1 a) Pé esquerdo antes da operação



b) Pé esquerdo 2 meses depois da operação

✓ Um falcão sofreu um severo traumatismo no pescoço, provavelmente por causa de um ataque de um congénere. A traqueia foi praticamente toda seccionada e a parede do esófago foi gravemente lesionada. Nenhum grande vaso foi atingido, e a ave respirava sem grandes dificuldades. A zona foi em primeiro depenada e limpa. A impermeabilidade do esófago foi controlada, projectando-se ar através de uma sonda que foi introduzida no esófago. Três buracos foram descobertos e fechados por pontos de sutura. Depois, os bordos da traqueia foram posicionados bordo a bordo. Foi introduzida uma sonda na traqueia para permitir à ave respirar e realizar-se a sutura desta. Foi-lhe administrado um antibiótico e um anti-inflamatório durante alguns dias. Não se verificou nenhuma dificuldade respiratória quando acordou (Fig. 2).



Fig. 2 Fotografias da cirurgia à traqueia de um falcão.

✓ O único método para determinar o sexo do género *Varanus* é por radiologia. De facto, se for um macho, existem dois hemipénis que podem ser vistos na radiografia como sendo duas linhas radiopacas paralelas ao eixo da cauda, no terço proximal. Se for uma fêmea, estas linhas radiopacas não aparecem.

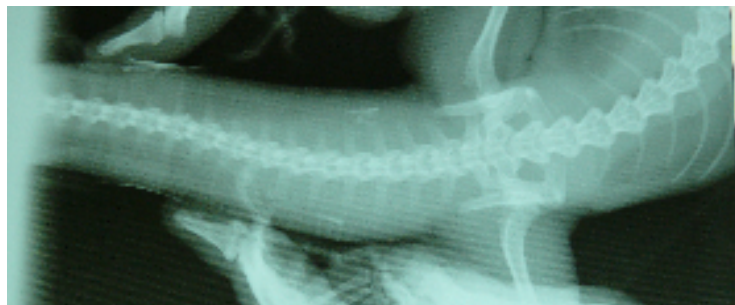


Fig. 3 Macho do género *Varanus*

Pelo facto de apenas ter assistido a todos estes procedimentos é que os apresento em introdução, e por isso a maior parte do relatório é baseado nas minhas pesquisas do tema: “A hemocromatose nos damões.”

Primeira Parte: Damões dos rochedos

I - Descrição da espécie.

Observações gerais sobre a ordem *Hyracoidea*

Os damões são mamíferos pouco conhecidos que pertencem à ordem dos hiracóides. Na ordem *Hyracoidea* existe apenas uma família, *Procaviidae*, que compreende três géneros e nove espécies. Dentro dos géneros temos *Procavia* (damão dos rochedos), *Heterohyrax* (damão das estepes) e *Dendrohyrax* (damão das árvores).

Os damões fazem parte da super-ordem *Paenungulata*, como os proboscídeos (o elefante) e os sirénios (o lamantim e o dugongo).

Uma característica típica dos hiracóides é a presença de uma glândula dorsal. Trata-se de uma área cutânea com mais ou menos 2 cm², estreita e alongada, exposta, rodeada de pêlos erécteis e que apresenta um aumento de densidade de glândulas tubulosas apócrinas e glândulas sebáceas. Produzem durante o cio uma secreção cremosa e odorífera que também utilizam para marcar o seu território.

Encontram-se animais desta ordem no Médio Oriente (Síria, Oeste da Arábia), e ao longo de uma área extensa do continente africano. A distribuição geográfica dos três géneros está representada na Fig. 4. O damão das árvores está disperso desde o Congo, e o Quénia até ao extremo Sul da África, o damão das estepes vive nas regiões estépicas da África Oriental, e o damão dos rochedos vive sobretudo nas montanhas das regiões áridas do Saara, da Síria, da Arábia Saudita e também no Quénia.



Fig.4a: Distribuição dos damões dos rochedos.



Fig. 4b: Distribuição dos damões das árvores.



Fig. 4c: Distribuição dos damões das estepes.

Os damões assemelham-se a coelhos devido ao seu tamanho, aparência geral e comportamento. A pelagem sobre o dorso é castanha acizentada e densa, enquanto que ventralmente é mais fina e mais clara. As vibrissas, provavelmente tácteis, estão dispersas no focinho. Os damões têm um focinho curto, um lábio superior com fenda, orelhas curtas e redondas, uma cauda vestigial muito curta e membros robustos e curtos (Fig. 5).

Os damões são plantígrados e caminham sobre os calcanhares. Têm almofadas plantares elásticas, munidas de glândulas sudoríparas que provocam um efeito de ventosa que lhes permite trepar. Os membros anteriores têm quatro dedos e as patas posteriores têm três. As unhas são achatadas e pretas, assemelhando-se a cascos, excepto um dos dedos do pé que tem uma garra fendida que utiliza para se lavar (Fig. 6).

A fórmula dentária é $I\ 2/2$, $C\ 0/0$, $PM\ 4/4 = 24$ para os dentes de leite, e $I\ 1/2$, $C\ 0/0$, $PM\ 4/4$, $M\ 3/3 = 34$ para a dentição definitiva. Os dois incisivos superiores crescem continuamente e assemelham-se a pequenas presas.



Fig. 5 : Foto de um damão dos rochedos do “Parc Zoologique d’Annéville”

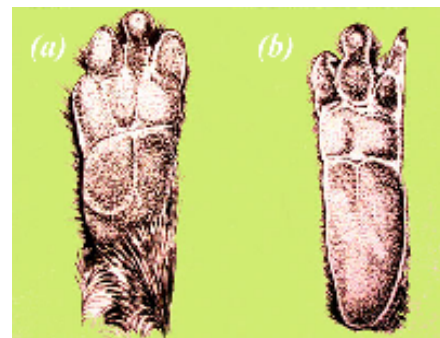


Fig. 6 : Patas de um damão. (a) Membro anterior ; (b) Membro posterior com a garra no dedo medial.

A anatomia do aparelho digestivo dos damões é única e complexa. O tracto alimentar do estômago ao ânus atinge em média cerca de 260 cm de comprimento. Estes animais têm um estômago muito semelhante ao dos suínos e equinos. O intestino está interrompido a mais ou

menos 160 cm da sua origem por um ceco intestinal que serve como local para degradação da celulose. O cólon começa no ceco intestinal e a mais ou menos dois terços do seu comprimento encontra-se com outro ceco bicornes, de função mal conhecida (Fig. 7).

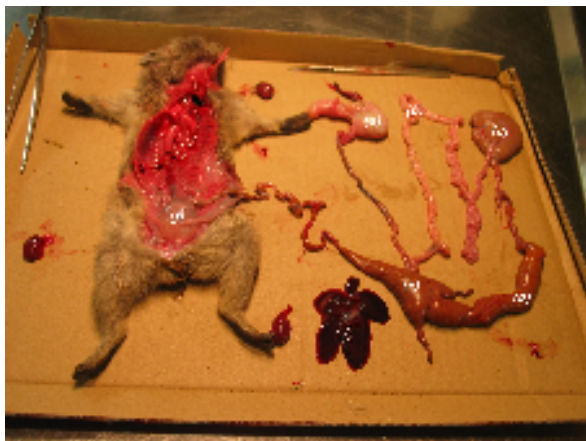


Fig. 7 : Sistema digestivo de um damão. (a) Estômago, (b) Intestino delgado, (c) Ceco intestinal, (d) Cólon, (e) Ceco bicornes, (f) Bexiga.

O damão tem três locais distintos de digestão (Wallach & Boever 1983):

- ✓ O estômago cranial tem níveis de ácidos gordos voláteis comparáveis ao rúmen (125 até 145 mmol/L). A alimentação sólida fica no estômago cranial durante as primeiras quatro horas após a ingestão e aí permanece durante 24h.
- ✓ O intestino guarda a ingesta até 16 h.
- ✓ O ceco bicornes é o último local onde ocorre a fermentação microbiana. A quantidade de ácido gordo volátil no intestino e no ceco bicornes é em média de 80 mmol/L.

O pH do intestino anterior varia entre 2 e 5,5. Este pH ácido é devido a uma reserva de ácido láctico que existe localmente. O pH do intestino médio e do ceco bicornes é neutro.

Comportamento

Contrariamente ao damão das árvores, que vive sozinho ou em grupos de dois ou três indivíduos, o damão dos rochedos vive numa colônia organizada de 50 a 60 animais, composta por um macho adulto com um máximo de 17 fêmeas e as suas crias. O habitat da colônia geralmente restringe-se aos limites da formação rochosa onde vive. Vários machos adultos podem viver na proximidade, mas cada macho defende o seu território e o seu grupo. Quando o grupo se ausenta para comer ou para tomar banhos de sol, uma sentinela coloca-se de pé como vigia. Se houver perigo (leopardo, serpente, aves de rapina ou outro damão macho) a ameaçar o grupo, a sentinela emite um sinal sonoro característico como advertência. Os damões dos rochedos e das estepes são diurnos, enquanto que os damões das árvores são noturnos. Os damões têm a capacidade de

ultrapassar condições desfavoráveis e de se adaptar às mudanças de ambiente. São animais homeotérmicos, como todos os mamíferos, mas têm pouca capacidade de auto-regulação da temperatura corporal e um metabolismo lento (Collins 2003). A temperatura corporal dos damões varia com a temperatura ambiente sendo necessário a tomada frequente de banhos de sol ou aconchegarem-se uns aos outros para preservar o calor.

Alimentação

Os damões são geralmente herbívoros. No seu habitat natural, alimentam-se habitualmente nas primeiras horas da manhã e no fim da tarde até ao crepúsculo (Griner 1987). A dieta consiste de folhas, rebentos de arbustos e ervas. Na África do Sul, comem quase todos os tipos de vegetação. Em períodos de seca, eles causam enormes estragos nos pomares e nos campos cultivados. Os damões são conhecidos por serem capazes de viver longos períodos de tempo sem ter acesso a água. Sabe-se igualmente que os damões consomem invertebrados, mas muito raramente.

Reprodução

O ciclo reprodutivo é sazonal e na África do Sul, a reprodução tem lugar entre Novembro e Fevereiro. O período de gestação é de aproximadamente sete meses e meio. O tamanho da ninhada varia entre uma a seis crias, com uma média de três. Geralmente, uma fêmea tem quatro tetas. Os pequenos são amamentados, mas alguns jovens parecem ser capazes de sobreviver sem amamentação. Os jovens damões são desmamados mais ou menos às seis semanas de idade e, geralmente, nesta idade o seu peso já duplicou em relação à nascença. O damão macho não tem escroto e os testículos intra-abdominais estão conectados ao pólo caudal dos rins. A ligação é suficientemente sólida para tornar a descida dos testículos impossível. A maturidade sexual é atingida entre os 15 e os 30 meses, ou no momento em que o animal pesa mais ou menos 1,5 kg.

II - Os damões em cativeiro.

A espécie em cativeiro mais comum é a *Procavia capensis*. Os damões reproduzem-se bem em cativeiro. Eles podem permanecer sozinhos ou em grupo, havendo casos de agressões mais frequentemente entre o macho dominante e os jovens machos recém-chegados à maturidade sexual. Assim, os jovens machos deveriam ser separados em caso de agressividade. Os damões defecam e urinam no mesmo local, então o seu recinto deve conter uma zona arenosa ou uma caixa preenchida com areia, renovada diariamente. Os damões dos rochedos podem ser

guardados em recinto aberto, desde que as paredes sejam suficientemente altas. De facto, os damões são muito ágeis e podem saltar uma altura de 1 a 1,5 m (Griner 1987).

No “Parc Zoologique d’Amnéville”, o recinto interior dos damões mede 6 metros de comprimento por 4 metros de largura. A temperatura interior é de 25° C durante o dia e 20° C durante a noite. A taxa de humidade é muito baixa. Os damões têm acesso a um recinto exterior de 8 m de comprimento por 3,5 m de largura quando a temperatura exterior é superior a 10° C. Os damões vivem com um calau-de-bico-vermelho (*Tockus erythrorhynchus*). A situação dos damões do “Parc Zoologique d’Amnéville” até ao dia 24 de Janeiro de 2009 está numa tabela no anexo III.

Dados biológicos

A temperatura rectal normal varia entre 36,4° C e 38° C. A sua frequência respiratória é de 37 a 50 rpm (respirações por minuto). A sua frequência cardíaca é de 120 a 140 bpm (batimentos por minuto). O esforço ou a excitação podem fazer subir o ritmo cardíaco até 225 bpm (Wallach & Boever 1983). Os damões dos rochedos machos pesam entre 2,2 kg e 3,2 kg enquanto que o peso das fêmeas varia entre 2 e 2,5 kg, subindo até 3 kg em caso de gestação. O comprimento total de um damão varia entre 40 e 57 cm. Os damões podem viver até aos 12 anos no máximo e as fêmeas conseguem viver mais tempo em cativeiro do que os machos.

Alimentação

Ainda se conduzem investigações para otimizar a dieta alimentar dos damões em cativeiro, sobretudo de alguns minerais como o ferro. Uma dieta baseada na alimentação comercial para coelhos suplementada com cenouras, batata-doce e alface parece ser satisfatória.

O regime alimentar dos damões no “Parc Zoologique d’Amnéville” está abaixo representado. Os animais são alimentados duas vezes por dia, de manhã e ao fim da tarde.

Alimento	Quantidade
Maçã	350 g cortada em pequenos pedaços
Cenoura	350 g cortada em pequenos pedaços
Granulados*	100 g
Alface verde	250 g
Feno	<i>Ad libitum</i>

Durante os primeiros dez dias de cada mês, o grupo inteiro de damões recebe uma dose de 2 ml de suplemento vitamínico e mineral (Vitapaulia M[®] Intervet), misturado com a refeição da manhã. A composição de 100 mL deste suplemento é a seguinte:

- ✓ Vitapaulia M[®] (Intervet): Vit. A 420 000 UI, Vit. D3 42 000 UI, Vit. E 46,2 mg, Vit. B1 42 mg, Vit. B6 21 mg, Vit. PP 126 mg, Cobre 8 mg, Cobalto 3,16 mg, Magnésio 7,44 mg, Manganés 615,66 mg, Zinco 6,79 mg.

* Trata-se de um alimento comercial com a seguinte composição: Pellet Herbivore PlusTM (Sanders): Proteína bruta (18 %), gordura (2,2 %), celulose bruta (10,1 %), feixo (14,9 %) + vitaminas (Vit. A 8000 UI/kg, Vit. D3 1500 UI/kg, Vit. E 1000 mg/kg) + Cobre (5 mg/kg).

Para além disso, na Primavera, no Verão, e no Outono quando possível, os damões recebem ramos de faia e de carpea.

Segunda Parte: A Hemocromatose

I - Metabolismo do ferro nos mamíferos

Introdução

O ferro é um nutriente essencial em quase todos os animais. Nos mamíferos, para além de estar presente no grupo heme das proteínas de armazenamento e de transporte do oxigénio (hemoglobina e mioglobina), também está presente no grupo heme de muitas enzimas. Em particular, está presente nas enzimas da cadeia respiratória mitocondrial, assim como nas enzimas implicadas na síntese do ADN. Assim, um défice grave de ferro celular leva ao abrandamento do metabolismo celular que eventualmente conduz à morte da célula. A nível orgânico, um défice grave de ferro leva a uma anemia ferropénica que diminui a chegada de oxigénio aos tecidos e tem efeitos nefastos sobre a função cardio-pulmonar (Ganz & Nemeth 2006). Dois terços do ferro estão associados à hemoglobina dentro do compartimento hematológico. O sector de armazenamento do ferro, células macrofágicas esplénicas e hepatócitos, representa 20 % do ferro presente no organismo. O resto do ferro é repartido entre a mioglobina das fibras musculares (10 %) e as enzimas que necessitam de ferro para serem activas (Loréal *et al.* 2002).

Sem ser o fenómeno de macrofagia dos eritrócitos envelhecidos pelos macrófagos esplénicos, as trocas de ferro entre os diferentes sectores são efectuadas via plasma. O transporte do ferro plasmático é essencialmente assegurado pela transferrina, glicoproteína sintetizada pelo fígado. Cada molécula de transferrina pode ligar dois átomos de ferro férrico (Fe³⁺). Os mamíferos são incapazes de excretar o ferro. As perdas de ferro do organismo são devidas essencialmente a

descamação celular, digestiva e cutânea. Uma quantidade muito pequena de ferro também se perde pelas vias biliar e urinária. Nas fêmeas acrescentam-se as perdas ginecológicas, as perdas ligadas a transferência de ferro para o feto aquando da gestação, assim como as que estão associadas à amamentação.

O sistema retículo-endotelial

O sistema retículo-endotelial (SRE) é composto por monócitos, macrófagos e pelas suas células precursoras. Os monócitos nascem a partir de células pluripotentes na medula óssea e são libertados no sangue. Depois da migração para diversos tecidos, diferenciam-se em macrófagos, com uma morfologia e qualidades funcionais características. Os órgãos contendo a maior quantidade de macrófagos são, por ordem decrescente, o fígado, o intestino grosso, o intestino delgado, a medula óssea, o baço e os rins. Por exemplo, as células de Kupffer no fígado são macrófagos do SRE e elas representam mais ou menos 30 % de todas as células do fígado. As células do SRE residem nos diferentes tecidos, tendo funções diferentes e específicas. No entanto, têm uma função comum que é a eliminação das células enfraquecidas ou lesionadas. Em particular, a “limpeza” dos eritrócitos envelhecidos ou lesionados é uma das vias importantes da reciclagem do ferro no organismo. Assim, o SRE tem uma ligação estreita com o metabolismo do ferro (Knutson & Wessling-Resnick 2003).

Absorção digestiva do ferro

A absorção do ferro pelo intestino efectua-se essencialmente a nível do duodeno, igualando as perdas. Trata-se de um fenómeno activo dependente de numerosas proteínas. O ferro proveniente da alimentação está presente no lúmen digestivo sobre duas formas bioquímicas: o ferro hémico, presente na carne, e o ferro não hémico, ou inorgânico, proveniente das frutas e dos legumes (Loréal *et al.* 2002).

O ferro hémico possui uma maior biodisponibilidade, é captado via um receptor do grupo heme e será então endocitado. Depois, o ferro é extraído de um grupo heme por uma heme oxigenase.

O ferro não hémico presente sobre a forma de ferro férrico (Fe^{3+}) deve ser reduzido à forma ferrosa (Fe^{2+}), graças a Dcytb ferrireductase (*duodenal cytochrome b-like ferrireductase*) no pólo apical do enterócito, para de seguida ser transferido para o citoplasma graças ao transportador transmembranar DMT1 (*divalent metal transporter 1*).

Uma vez no citoplasma, os átomos de ferro são dirigidos para o pólo basal do enterócito ou para a ferritina (proteína de armazenamento celular do ferro). A saída do ferro do enterócito pelo pólo basal efectua-se graças a duas outras proteínas: a ferroportina e da hephaestina.

A ferroportina é um transportador transmembranário que permite a saída do ferro Fe^{2+} da célula. No entanto, não é suficiente para permitir o bom funcionamento do transporte do ferro, porque ratos que apresentam uma deficiência em hephaestina desenvolvem uma carência de ferro por défice de absorção digestiva.

Mecanismos de importação e de exportação do ferro

Como já foi visto, uma parte do ferro foi absorvida pelo intestino e rejeitada no plasma sob a forma de Fe^{3+} ligando-se à transferrina. A maioria das células colmata a sua necessidade de ferro absorvendo-o ligado à transferrina do plasma, graças ao receptor da transferrina 1 que liga as moléculas de transferrina diférrica ou monoférrica. A saída do ferro no citoplasma faz-se pelo transportador DMT1 depois de ter sido reduzido a Fe^{2+} . O complexo receptor-transferrina é reciclado na membrana plasmática, pronto para outro ciclo.

Quando o ferro não ligado à transferrina (FNLT) está presente no plasma, está demonstrado que é essencialmente captado pelo fígado que extrai 70 % do FNLT na primeira passagem portal (Loréal *et al* 2002). A fagocitose dos eritrócitos envelhecidos pelos macrófagos especializados constitui um mecanismo indirecto importante da absorção do ferro.

Tem então vários mecanismos de absorção do ferro, mas só existe um método de exportação do ferro celular, descrito anteriormente. A ferroportina encontra-se em todas as células exportadoras de ferro, mas nas células não-intestinais, a hephaestina é substituída pela proteína ceruloplasmina (contendo cobre), que tem a mesma função (Fig 5).

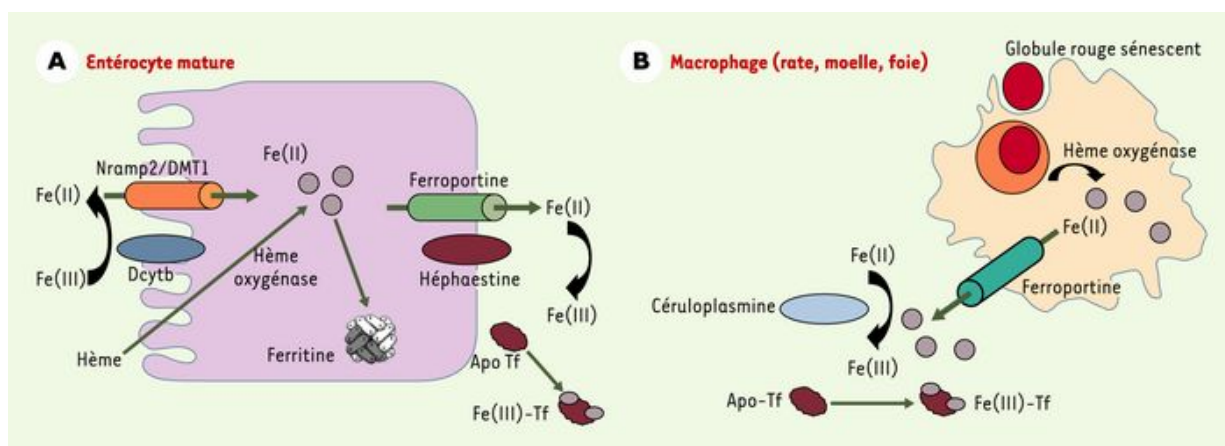


Fig.5: Esquema dos mecanismos de importação e exportação do ferro nos enterócitos (A) e nos macrófagos (B).

Homeostase do ferro a nível celular

No interior da célula, distingue-se o ferro do compartimento de trânsito, o ferro que está associado às proteínas necessitando da sua presença para serem activas (*pool* de ferro funcional), e o ferro do compartimento de armazenamento (Loréal *et al.* 2002).

O compartimento de trânsito é citosólico. O ferro que contém provém ou do ferro que acaba de entrar na célula, ou do ferro intracelular mobilizado a partir dos locais funcionais ou de armazenamento. Trata-se então de um compartimento em equilíbrio entre o meio intracelular e o meio extracelular, chamado de “*pool* de ferro lábil intracelular (LIP)”. A presença de um excesso de ferro neste *pool* poderia favorecer o aparecimento de radicais livres que estão na origem de uma reacção de peroxidação podendo tocar os lípidos e o ADN, gerando lesões celulares potencialmente graves.

O *pool* de ferro funcional representa o ferro que permite assegurar o funcionamento das diferentes vias metabólicas e assim assegurar o funcionamento celular.

O *pool* de ferro de armazenamento está representado pela ferritina e pela hemosiderina. A ferritina é uma proteína constituída podendo conter 4500 átomos de ferro. A ferritina está presente nas células, mas em pouca quantidade no plasma. A ferritina troca relativamente rápido o ferro com a transferrina. Em contrapartida, a hemosiderina é uma reserva estável que só troca o seu ferro lentamente. A sua composição molecular não é bem conhecida. Trata-se de um pigmento insolúvel, encontrado unicamente nas células, composto por ferritina desnaturada, óxido de ferro e outros constituintes. Na maioria das vezes, encontra-se a hemosiderina nos macrófagos, especialmente depois de um episódio hemorrágico.

Homeostase do ferro a nível do organismo

Sabe-se que a absorção digestiva do ferro está aumentada aquando das situações de carência em ferro, de anemia mas também de hipóxia. Assim, durante certas anemias hemolíticas (talassémias) que levam a uma sobrecarga em ferro, existe paradoxalmente uma hiperabsorção do ferro (Loréal *et al* 2002).

A hepcidina, hormona descoberta recentemente, é o regulador principal da homeostasia do ferro no organismo.

II - Hepcidina e patologias do ferro.

Hepcidina

A hepcidina foi descoberta em 2001 e é uma hormona reguladora da homeostase do ferro dentro do organismo (Ganz 2003). Ela é produzida no fígado, e circula no plasma, sendo excretada através da urina. A hepcidina é encontrada nos vertebrados, incluindo os peixes, e pensa-se que evoluiu de um péptido antimicrobiano que adquiriu uma nova função.

A hepcidina é um regulador negativo da absorção, da reciclagem e da liberação do ferro e reciprocamente a produção da hepcidina é regulada pelo ferro e pela anemia. Uma deficiência em hepcidina causa uma sobrecarga grave em ferro, enquanto que uma sobreprodução em hepcidina causa uma anemia em ferro grave.

Acção da hepcidina

A principal actividade biológica da hepcidina é uma rápida indução de hipoferrémia. Assim sendo, uma injeção de hepcidina num rato causa uma diminuição grave do ferro no soro na próxima hora e os efeitos persistem durante 72 horas (Ganz & Nemeth 2006). A hepcidina age actua-se ligando-se a ferroportina, provocando a sua internalização e a sua degradação, parando assim a saída do ferro da célula. Como se viu anteriormente, a ferroportina está presente em todo tipo de células exportadoras de ferro no plasma: enterócitos do duodeno, hepatócitos e macrófagos. Dentro destas células, a ferroportina está numa posição única para regular o fluxo de ferro, saindo no plasma proveniente da alimentação, dos armazenamentos hepáticos e dos macrófagos reciclando os eritrócitos envelhecidos.

O ciclo homeostático implicando a hepcidina e a ferroportina mantém uma concentração normal do ferro extracelular. Quando a saturação da transferina plasmática aumenta, por exemplo devido a uma alimentação rica em ferro, isso estimula a libertação da hepcidina. O aumento da concentração da hepcidina conduz à degradação da ferroportina. Daí resulta uma inibição da liberação de ferro no plasma desde as células exportadoras de ferro rico em ferroportina.

Inflamação e hepcidina

Sabe-se desde há muito tempo que a inflamação altera o metabolismo do ferro diminuindo a taxa de ferro dentro do plasma (hipoferrémia da inflamação). Se a inflamação é suficientemente grave ou crónica, pode-se desenvolver uma anemia normocítica normocrómica como nas ACD (Anemia of Chronic Disease, anemia of inflammation). Bem que esta anemia seja parecida com uma anemia ferropénica visto que estas duas implicam uma diminuição da concentração de ferro

dentro do plasma, esta difere da anemia ferropénica pela presença de ferro nos macrófagos da medula óssea, e por uma taxa de ferritina no soro elevada, prova que o armazenamento de ferro é adequado.

Durante a inflamação, há uma produção de citocinas e em particular a interleucina-6 (IL-6). Esta produção de IL-6 leva a um aumento da produção de hepcidina (Ganz 2003). O aumento da concentração de hepcidina plasmática leva à internalização e à degradação da ferroportina nos macrófagos, nos hepatócitos e nos enterócitos do duodeno, aprisionando assim o ferro dentro das células e impedindo este de sair para o plasma. Passado algumas horas, a utilização contínua de ferro pelos eritrócitos em desenvolvimento reduz a concentração de ferro plasmática, causando uma hipoferrémia. A eritropoiese está limitada ao ferro existente e o organismo substitui o ferro por zinco na síntese da hemoglobina (zinco protoporfirina). Estes glóbulos vermelhos são então incapazes de transportar o oxigénio. Para além disso, a inflamação encurta o tempo de vida dos glóbulos vermelhos, assim o aumento das perdas em eritrócitos e a diminuição da substituição destes eritrócitos leva a anemia. Finalmente, a hipoferrémia e a anemia param a produção da hepcidina (Ganz & Nemeth 2006). Em caso de anemia e de sobrecarga em ferro, é o sinal inibidor da anemia sobre a produção da hepcidina que domina.

III - Hemocromatose.

Introdução.

Uma sobrecarga em ferro é chamada de hemosiderose ou siderose, quando os efeitos tóxicos do ferro não são identificados, e hemocromatose quando há uma evidência morfológica ou funcional da toxicidade do ferro (Lowenstine & Munson 1999). A hemosiderose e a hemocromatose podem ser primárias (hereditária) ou secundárias (alimentação, infecções, intoxicação, certas anemia). As síndromes de sobrecarga de ferro encontram-se bem descritas em humanos, mas há um número crescente de publicações sobre as sobrecargas de ferro em aves e em algumas espécies de mamíferos. Sabe-se muito pouco sobre a sobrecarga de ferro nos anfíbios e répteis.

Causas e consequências.

Como já foi dito, a hemosiderose pode ser primária, devido a uma ausência hereditária de bloqueio da absorção intestinal de ferro, ou pode ser secundária, devido a uma sobrecarga alimentar ou parenteral ou a um certo número de doenças.

Como já foi mencionado anteriormente, as inflamações diminuem a taxa de ferro libertado pelas células do sistema retículo-endotelial (monócitos, macrófagos e as suas células precursoras), causando um aumento do armazenamento do ferro e uma hipoferremia. Pensa-se que é um mecanismo de defesa, visto que o ferro sequestrado dentro das células não pode ser mais utilizado pelos microrganismos invasores que precisam de ferro para sua replicação.

O nível de ferro das células retículo-endoteliais aumenta em caso de anemia aplásica (a medula óssea não compensa as perdas de glóbulos vermelhos) ou quando os glóbulos vermelhos não podem utilizar o ferro correctamente (talassémia no homem), especialmente no caso de transfusão de sangue ou administração parenteral de ferro.

Em caso de jejum ou de fome, o catabolismo dos tecidos aumenta igualmente o armazenamento de ferro.

Uma deficiência ou um excesso de cobre parece bloquear a liberação de ferro das células retículo-endoteliais e dos hepatócitos. Isto é devido ao facto de que um défice ou uma sobrecarga em cobre provoca uma diminuição da concentração de ceruloplasmina no plasma, o que impede o bom funcionamento da liberação do ferro dos macrófagos e dos hepatócitos.

No caso da hemocromatose, a presença de um excesso de ferro foi tóxico para a célula, o tecido ou o órgão. Frequentemente, a fase final da hemocromatose traduz-se por uma fibrose, no fígado, uma cirrose (destruição dos hepatócitos, seguido de lesões de fibrose alternadas com regeneração celular que não respeita mais a organização inicial lobular).

A cirrose é uma das consequências mais graves de uma sobrecarga de ferro, e foi observada nas aves e em alguns mamíferos. No entanto, algumas toxinas ou infecções, danificando o fígado, também podem levar a uma sobrecarga de ferro, devemos então ser muito prudentes na interpretação das causas e dos efeitos.

Uma sobrecarga em ferro pode aumentar o risco de infecções, especialmente quando o nível de ferro sérico está elevado.

Sintomas.

No homem, a maioria dos casos de hemocromatose são de tipo primário, ou seja hereditária, causada por uma mutação do gene HFE. Em geral, as manifestações clínicas só aparecem depois dos 40 anos. Os principais sintomas são um cansaço inexplicável, um aspecto “bronzado” que é uma melanismo, dores articulares, insuficiência hepática (cirrose), cardíaca e endócrina (diabetes, hipotireoidismo). Os sinais clínicos associados a uma sobrecarga de ferro nos animais são geralmente presentes no fígado, bem que casos de insuficiência cardíaca já foram assinalados. A

pigmentação cutânea e o “bronze diabético” que são sequelas da hemocromatose no homem não foram observadas nos animais.

A principal característica nas aves e nos mamíferos é um emagrecimento crónico.

Diagnósticos.

Na maioria das vezes, uma sobrecarga de ferro é diagnosticada post-mortem. Quando um patologista utiliza o termo hemosiderose ou siderose, isto significa que há um excesso de ferro identificável por coloração ao Azul de Prússia (coloração de Perls) nas células parenquimatosas ou nos macrófagos. A presença deste ferro pode resultar de um aumento total da quantidade de ferro intracelular ou de uma transferência da ferritina em hemosiderina que se efectua quando o armazenamento de ferro é excessivo ou quando uma célula que contém ferro sofre lesões.

Os níveis de enzimas hepáticas estão frequentemente elevados no caso da hemocromatose. Uma hipoproteinémia e outros sinais evidentes de uma insuficiência hepática podem estar presentes.

Testes para estimar o nível de ferro podem ser realizados, incluindo o ferro sérico, a transferrina ou TIBC (Total Iron-Binding Capacity) e o coeficiente de saturação da transferrina. O intervalo dos valores do nível de ferro variam segundo as espécies, mas para os mamíferos, podemos esperar os valores médios seguintes (Lowenstine & Munson 1999):

- ✓ Ferro sérico: 100 µg/dL (intervalo: 55-185 µg/dL)
- ✓ TIBC: 300 µg/dL (intervalo: 250-425 µg/dL)
- ✓ Coeficiente de saturação: mais ao menos 33%

Quando um animal tem uma sobrecarga média em ferro, temos um aumento dos níveis de TIBC. Se o aumento persiste, uma sobrecarga, uma doença do fígado ou uma eritropoiese anormal podem ser suspeitadas.

Um nível elevado de ferro sérico pode refletir uma sobrecarga em ferro, mas aumentos destes níveis podem ser devidos a muitos outros fenómenos.

Pode-se também medir a concentração de ferritina sérica. O nível de ferritina é a melhor medida do armazenamento de ferro nos humanos. No entanto o teste habitual é imunológico (método RIA) e é específico para cada espécie, o que limite a sua utilização nos animais.

Tratamento e prevenção.

Os principais tratamentos de uma sobrecarga de ferro são a retirada de ferro do sangue por flebotomia ou a da retirada de ferro dos órgãos e do sistema reticulo-endotelial por quelação. Retirar ferro por quelação é um processo lento. O quelante de ferro mais utilizado é a

Deferoxamina B (DFO) que é específica do ferro (Lowenstine & Munson 1999). Graças à sua especificidade, é um excelente instrumento para reduzir a sobrecarga de ferro, mas deve ser dado por via parenteral, e tem uma semi-vida no plasma curta (mais ou menos uma hora). A Deferoxamina age ligando o ferro férrico, para o qual ela tem uma grande afinidade, e formando um complexo estável, solúvel chamado ferrioxamina, que será eliminado na urina via os rins. Uma quantidade de 100 mg de Deferoxamina é capaz de ligar mais ou menos 8,5 mg de ferro no homem.

A DFO não pode quelar o ferro da hemoglobina ou da transferrina. Portanto, o ferro disponível para a quelação é o ferro armazenado nas células (ferritina, ferro lábil, hemosiderina).

A DFO pode entrar nos hepatócitos e retirar o ferro lábil que vai ser excretado pela bÍlis e as fezes.

A DFO também pode entrar em competição com a transferrina para ligar o ferro, na membrana dos hepatócitos, e solubiliza o ferro para excreção renal.

A DFO é potencialmente tóxica e alguns efeitos indesejáveis foram observados nos humanos, incluindo distúrbios mentais, auditivos e oculares. Todos estes distúrbios são reversíveis depois da cessação do tratamento.

Foi relatado um aumento das infecções bacterianas e fúngicas, como a yersiniose e mucormicose em pacientes humanos durante o tratamento de quelação do ferro. De facto, a Deferoxamina B inibe fortemente a produção de interleucina IL-6 e IL-12 e outros compostos do sistema imunitário, o que favorece as infecções por algumas bactérias do género *Yersinia* (Autenrieth *et al.* 1995). Os fungos que causam uma mucormicose (como o género *Rhizopus*) estão muito presentes no ambiente e muito raramente patogénicos. São fungos oportunistas. Está provado que o plasma sanguíneo contém constituintes que inibem a proliferação de *Rhizopus*, mesmo se os mecanismos não são conhecidos. A DFO pára esta inibição e favorece a infecção e o aparecimento de uma mucormicose (Boelaert *et al.* 1993).

Nos casos da síndrome anémico crónico (ACD) com siderose das células reticulo-endoteliais do fígado, do baço e da medula óssea, o ferro armazenado é muito pouco mobilizado pela DFO. De facto, parece que neste caso, o ferro lábil está em muito pouca quantidade e que o ferro armazenado esteja sobre a forma menos solúvel e menos quelatável (Feldman *et al.* 1981).

Alimentação e sobrecarga de ferro.

Segundo numerosos relatórios de necrópsia, parece que as síndromes de deposição de ferro nos órgãos têm frequentemente uma origem alimentar. Em particular, uma deposição excessiva de

ferro parece sobretudo aparecer nas espécies cuja dieta natural contém muito pouco ferro disponível (Mc Donald 2006).

Geralmente, a dieta para os animais em cativeiro contém muito ferro disponível. De entre os herbívoros, as espécies *browsers*, ou seja que preferem comer arbustos em relação a erva, são particularmente afectados porque a sua dieta natural contém quelantes de ferro (os taninos) contrariamente a uma dieta em cativeiro que não contém quase nenhum.

Como já foi visto, o ferro é absorvido ao nível do duodeno depois de ter sido reduzido da forma férrica para a forma ferrosa. A vitamina C reduz e quelata o ferro não hémico, favorecendo assim a absorção do ferro. O ácido ascórbico mantém igualmente um complexo solúvel quando o pH intestinal aumenta, aumentando a solubilidade do ferro férrico.

Os taninos reduzem a absorção do ferro bio-disponível interferindo com a formação de complexos no intestino. No entanto, os taninos condensados interferem menos com a absorção do ferro que outros taninos.

As gorduras saturadas aumentam a absorção do ferro. A alimentação comercial para cão utilizada como substituto de invertebrados pode conter um elevado nível de gorduras saturadas.

A vitamina E é um potente antioxidante, qualquer composto que provoca um stress oxidativo é considerado como tendo um efeito potencialmente negativo sobre a concentração de vitamina E. O teor em vitamina E nos alimentos comerciais é muitas vezes baixo.

As plantas não contêm vitamina A. Na natureza, os herbívoros ingeram carotenóides, que são provitamina A e transforma-os em vitamina A quando precisam. A vitamina A aumenta a absorção do ferro contido nos grãos (arroz, trigo e milho) que são muitas vezes utilizadas nas comidas comerciais. Contrariamente à alimentação natural, a alimentação comercial contém níveis muito altos de vitamina A.

IV - A hemocromatose nos Damões.

Introdução

No damão dos rochedos pode ocorrer uma sobrecarga de ferro, esta é geralmente observada e nos casos de hemocromatose, o ferro está sobretudo presente nas células reticulo-endoteliais do intestino, do baço, dos gânglios linfáticos e nos hepatócitos. A fibrose hepática é observada em muitos casos, mas a quantidade de ferro observável por coloração nem sempre se correlaciona com o grau de fibrose. Historicamente, os damões dos rochedos são muitas vezes infectados por *Grasshenia procavia* causando úlceras gástricas e hemorragias gástricas. No entanto, os casos

de hemossiderose grave foram observados sem parasitismo, estando no entanto presentes outros processos inflamatórios.

É evidente que a sobrecarga de ferro observada nos damões dos rochedos é multifactorial.

Grassenema procavia

Conhece-se muito pouco acerca deste parasita (Griner 1987). O *Grassenema procavia*, é um pequeno nemátodo branco com mais ou menos 3 mm de comprimento, é um habitante natural do canal alimentar e mais particularmente do estômago e dos cecos intestinais. Este parasita facilmente passa despercebido quando se examina grosseiramente o conteúdo do estômago e do aparelho digestivo. O exame microscópico de secções de estômago que apresentem uma úlcera gástrica permitem evidenciar a presença de *Grassenema procavia*. Este parasita tem um ciclo de vida directo e a fêmea dá nascença a larvas. Esta é uma característica significativa para o diagnóstico, se as amostras de fezes são observadas por método de flutuação. A presença de *Grassenema procavia* pode ser detectada por lavagem gástrica. Pensa-se que este nemátodo, como os que estão presentes nos pinípedes, está na origem da patogénese das úlceras gástricas. O controlo de *Grassenema procavia* pode ser conseguido através do melhoramento das condições sanitárias e mais especificamente pela prevenção da contaminação fecal da água e da comida. Parece que este tipo de contaminação seja a responsável pela propagação do parasita.

Estudo dos casos do “Parc Zoologique d’Amnéville”

Todos os damões dos rochedos do “Parc Zoologique d’Amnéville” estão sujeitos a vermifugações regulares. São efectuadas coprologias por rotina uma ou duas vezes por ano ou sempre que se suspeita de algum problema. Em 2003, os damões começaram a ser vacinados contra a yersiniose. A vacina utilizada é Pseudovac[®] produzida por Utrecht University e trata-se de uma vacina inativada. As injeções são efectuadas via subcutânea (sc) sendo as duas primeiras aproximadas (mais ou menos 6 semanas entre as duas injeções) e depois um rappel seis meses mais tarde, posteriormente recebem uma injeção anual. As vacinações pararam em 2007 visto que a vacina parecia ineficaz. De facto, sete damões morreram de yersiniose durante estes quatro anos, apesar da vacinação.

Ocorreram quatro casos de hemocromatose ocorreram no “Parc Zoologique d’Amnéville”, três fêmeas (PC004, PC005 e PC0024) e um macho (PC006). Infelizmente, três destes animais morreram antes da minha chegada no “Parc Zoologique d’Amnéville”, e o caso de PC0024 é o menos interessante, uma vez que ela morreu repentinamente e a necrópsia não revelou nada de

particular. Tento aqui analisar os três casos com base nos dados do zoo e emitir hipóteses explicando a evolução da patologia.

A) Caso nº1: PC004

1) História

- ✓ A fêmea PC004 nasceu no Egipto aproximadamente em Outubro de 1999. Ela chegou ao “Parc Zoologique d’Amnéville” em Agosto de 2000. Até Dezembro de 2004, esta damão não teve problemas de saúde. As únicas intervenções foram as vermifugações e vacinações.
- ✓ Em Dezembro de 2004, efectuou-se uma análise sanguínea sobre PC004 (damão testamunha 1) para comparar com os resultados (Anexo II) com o PC005 (que estava doente neste momento e apresentava anemia). Verificou-se que a fêmea PC004 tinha uma anemia e um nível de ferro sérico bastante baixo.
- ✓ Em Março de 2005, ela foi encontrada com um mau estado geral, mas não havia perda de peso significativo e a temperatura corporal estava normal. Nos resultados obtidos da análise sanguínea de Dezembro, suspeitou-se de uma carência em ferro. Para além disso, à palpação abdominal, pareciam existir uma ou duas massas que seriam fetos. Tentativa de tratamento: Ferconsang[®] 5 gotas (0,15 ml) por dia *per-os* (po) durante sete dias.
- ✓ Em Abril de 2005, foi feita uma nova análise sanguínea. O exame de estado geral estava normal, excepto ela ter emagrecido (em relação a última pesagem de Março, ela perdeu 385 g o que representa 16% do seu peso). Os resultados da análise são semelhantes aos do 14 de Dezembro de 2004, apesar de ter recebido um tratamento de ferro no 11 de Março de 2005. O tratamento com Fercobsang[®] (Vétoquinol) é retomado para PC004 (0,15 ml/dia po durante 7 dias).
- ✓ No início de Fevereiro de 2006, observou-se uma perda de peso e uma ligeira hipotermia (35,1 °C). Suspeita de sobrecarga de ferro ou de deficiência de ferro. É feita uma nova análise de sangue é feita: os resultados são semelhantes aos do 14 de Dezembro de 2004 mas o ferro sérico é duas vezes mais baixo (35 µg/dl). É realizada uma coprologia é realizada e são visualizados numerosos oocistos de coccidia. Uma anemia ferropénica e um cansaço são diagnosticados. Começa-se um tratamento com Fercobsang[®] (Vétoquinol) 0,12 ml por via sc o primeiro dia e depois passa-se a 5 gotas/dia via po directamente na boca do animal durante 7 dias. Ela morre no dia 12 de Fevereiro de 2006.

2) Relatório de necrópsia.

A fêmea PC004 estava gestante (um feto fêmea). Observa-se uma atelectasia e um enfisema pulmonar superficiais. Estão presentes manchas pretas nos lobos craniais do pulmão esquerdo e na periferia do miocárdio. O estômago está fortemente congestionado com ulcerações em certos locais. Presença de uma hemorragia petequial na zona duodenal do intestino delgado. O ceco intestinal apresenta uma mucosa muito congestiva com numerosas lesões punctiformes. As fezes são moles na parte final do recto enquanto que são normais e duras na zona cólica. A coprologia é realizada com fezes retiradas durante a necrópsia e mostra numerosos quistos de coccídia e parece ter presente larvas ou adultos de nemátodos. Foram recolhidas amostras durante a necrópsia e enviadas para exame histopatológico de pulmão, coração, baço, rim, fígado, estômago, duodeno, ceco intestinal, ceco bicorné e gânglio mesentérico.

3) Histopatologia.

O exame histopatológico revela uma hemosiderose hepatocelular grave, panlobular com a presença de imagens de sobrecarga em hemosiderina nas células de Kupffer, mas uma ausência de fibrose ou de manifestações inflamatórias visíveis.

O baço também apresenta uma hemosiderose discreta em centros disseminados.

No intestino, o epitélio de superfície está na maioria das vezes descamado. O córion contém alguns sectores com numerosos macrófagos carregados de hemosiderina.

Foi observada uma miocardite degenerativa com lesões mínimas.

B) Caso nº2: PC005

1) História

- ✓ A fêmea PC005 nasceu no Egipto aproximadamente em Abril de 1999. Chegou ao “Parc Zoologique d’Amnéville” em Agosto de 2000. No fim do ano 2002, foi encontrada com anorexia e com hipotermia (34,2 °C). Ela tem uma doença crônica caquetizante. O tratamento instituído foi 0,75 mL de Marbofloxacin 2% por via im durante 7 dias. Foram encontradas numerosas formações vermiformes foram encontradas na coprologia (apriori são nemátodos.)
- ✓ Em Dezembro de 2004, ocorre uma nova anorexia. Duas grandes massas (fetais ou quistos) estão presentes. Foram realizadas duas análises sanguíneas foram realizadas (Anexo II) e verificou-se uma anemia não regenerativa. O ferro sérico está bastante baixo (64 e 69 µg/dL). A fêmea estava gestante e abortou. Início de um novo tratamento antibiótico com Marbofloxacin 2%. Como não se tem valores de referência para o nível de ferro nos damões,

efectuou-se análises sanguíneas em algumas deles que ficaram a ser os damões testemunhas (PC004, PC006 e PC0012).

- ✓ No mês de Janeiro de 2005, foi encontrada uma massa semi-dura de um lado e outro na base do pescoço. Uma nova análise sanguínea foi feita no início de Janeiro. Os resultados desta análise mostram que a anemia persiste, mas não se obteve resultados para o ferro sérico. Iniciou tratamento com Fercobsang[®] (Vétoquinol) com 4 gotas/dia via po durante 7 dias. Uma nova análise de sangue é realizada no fim de Janeiro, e daí pode-se ver que para além da anemia ainda persistir, o ferro sérico estava a 66 µg/dL, o que é muito baixo. Um novo tratamento de ferro é iniciado no fim de Fevereiro de 2005 com Fercobsang[®] (Vétoquinol) com uma dose de 4 gotas/dia via po durante 7 dias.
- ✓ No fim de Abril de 2005 o estado geral de PC005 estava bom apesar de estar sempre magra. Uma nova análise sanguínea foi realizada e pode-se ver que os valores do hemograma são quase normais, o ferro sérico é de 170 µg/dL. Um novo tratamento de ferro com Fercobsang[®] (Vétoquinol) é efectuado a razão de 5 gotas/dia via po durante 7 dias.
- ✓ Em Fevereiro de 2006, a fêmea PC005 emagraceu de novo, mas mantendo o apetite. Suspeita-se de um problema do metabolismo do ferro (hemosiderose ou deficiência em ferro). Uma nova análise de sangue é feita e os valores do hemograma estão ligeiramente abaixo dos valores normais e o ferro sérico é de 128 µg/dL. Uma coprologia também é realizada e observam-se numerosos oocistos de coccídias.
- ✓ No início de Agosto de 2006, ela foi encontrada consideravelmente enfraquecida com uma grave hipotermia (33,4 °C) e uma diarreia. Suspeita-se de uma hemosiderose. O tratamento instituído é de 0,3 mL de Desferal[®] (Novartis) via sc e depois 0,3 mL/dia via po durante 7 dias. Ela morreu no dia 07 de Agosto de 2006.

2) Relatório de necrópsia

As mucosas estão pálidas. Observa-se um edema subcutâneo na face ventral do corpo, um edema do miocárdio e um enfisema pulmonar. O fígado apresenta uma cor heterogénea. No estômago, existe um aumento da circunvolução da parte mecânica e úlceras na parte química. Existe uma congestão importante do intestino delgado, e o segmento hemorrágico assim como o gânglio mesentérico estão pretos.

As amostras recolhidas e enviadas para um exame histopatológico foram do coração, pulmão, fígado, baço, rim, gânglio mesentérico, estômago e intestino delgado.

A coprologia realizada logo a seguir à necrópsia mostrou a presença de numerosos oocistos de coccídias.

3) Histopatologia.

No intestino, estão presentes na maioria das vezes uma descamação e lise do epitélio viloso. Nos sectores identificáveis, não se observam elementos parasitários. O córion é regularmente o local de infiltração por siderófagos.

No fígado, os espaços porta são infiltrados por numerosos siderófagos. O citoplasma dos hepatócitos está sobrecarregado com grânulos de hemosiderina. A sobrecarga é difusa e panlobular. Não se identifica fibrose no parênquima hepático.

No baço, a hemosiderose é difusa.

No gânglio linfático, a hemosiderose é difusa e grave.

No coração, as cavidades ventriculares estão fortemente dilatadas, particularmente no coração esquerdo.

C) Caso nº3: PC006

1) História

- ✓ O macho PC006 nasceu em cativeiro no “Parc Zoologique d’Amnéville” em Março de 2001. Até 2007, não foi relatado nenhum problema em relação ao macho PC006. As únicas intervenções foram vermifugações, vacinações e tratamentos preventivos contra a yersiniose.
- ✓ Em Abril de 2007, após uma provável agressão por um membro do grupo, foi efectuada uma análise sanguínea. Os resultados (Anexo II) demonstraram um grande aumento de bilirubinas (total, indirecta e directa) e uma leucocitose. Iniciou-se um tratamento antibiótico com Amoxicilina 0,5 mL/48h via im num total de doze administrações. Uma nova análise de sangue no fim do mês foi feita, e aí observou-se valores normais de bilirubinas e dos leucócitos, mas um forte aumento das enzimas do fígado, AST (aminotranferase do aspartato) e ALT (aminotranferase da alanina).
- ✓ Em Fevereiro de 2008, o macho PC006 é encontrado abatido, isolado e prostrado. Tem uma hipotermia grave (32,7 °C). Realizou-se uma coprologia colectiva que revela a presença de numerosos adultos vermiformes (provavelmente *Grasshenema procavia*). Uma nova análise sanguínea é efectuada e os resultados mostram um aumento dos leucócitos. O ferro sérico está baixo (61 µg/dL). Inicia-se um tratamento com um quelante de ferro: Desferal® (Novartis) 0,25mL via sc nos dois primeiros dias e depois via po durante uma semana.
- ✓ Em Março de 2008, uma nova análise de sangue é realizada. Os resultados mostram uma anemia com um ferro sérico de 101 µg/dL.

- ✓ Em Junho de 2008, ele é encontrado apático e afastado do grupo. Uma nova análise sanguínea é feita, e os resultados mostram a existência de uma anemia com diminuição do ferro sérico (47 µg/dL). Está em grave hipotermia (< 32°C). O tratamento instituído é o Desferal® (Novartis) 0,5mL/dia via im durante 7 dias, e ao mesmo tempo Fercobsang® (Vétoquinol) 5 gotas via po. Ele morre no dia 14 de Junho de 2008. Na véspera da morte, o Desferal® (Novartis) passou a ser dado por via po e o Fercobsang® (Vétoquinol) por via sc.

2) Relatório de necrópsia

Os pulmões estão enfisematosos. O fígado é de pequeno tamanho com bordos coloridos, mais escuros em certas zonas. Os rins estão congestivos e os testículos estão hipertrofiados. A mucosa gástrica apresenta numerosas crateras brancas (parasitárias) na parte alta e está muito congestionada na parte baixa pilórica. Há uma hemorragia jejuno-ileal e uma hemorragia do ceco intestinal. A mucosa do ceco bicornes está completamente preta.

As amostras recolhidas que foram enviadas para um exame histopatológico provêm do pulmão, coração, fígado, baço, rim, testículo, parede gástrica, jejuno-ileo, ceco intestinal e ceco bicornes.

3) Histopatologia.

No baço, encontram-se numerosos macrófagos saturados em hemosiderina. Presença de numerosas imagens de eritrofagocitose.

No fígado, nota-se a presença de macrófagos saturados em hemosiderina em todos os espaços porta; activação das células de Kupffer cujo citoplasma está carregado de hemosiderina. Hemosiderose nas zonas centrolobulares.

Observa-se na mucosa estomacal uma exocitose neutrofílica multicêntrica resultando na formação de pústulas de tamanho variável.

D) Discussão

Graças ao “International Species Information System” (ISIS), existe uma tabela com os valores de referência dos parâmetros fisiológicos do damão dos rochedos mas infelizmente, não existe nenhuma referência para o ferro sérico ou para a ferritina. Quando PC005 esteve doente em 2004, as análises de sangue foram efectuadas em damões que supostamente estavam em boa saúde (“damões testemunhas”) para obter um valor de ferro sérico que poderia servir de referência. Utilizamos como “damões testemunhas”, os damões PC004, PC006 e PC0012, e os valores eram respectivamente de 69 µg/dL, 146 µg/dL e 182µg/dL. Estes resultados não permitem ter uma boa ideia do valor do ferro sérico de um damão saudável, o que faz com que a análise dos casos seja mais difícil.

Os damões PC004 e PC005 desenvolveram uma anemia bastante grave, com uma suposta descida do ferro sérico ($< 70 \mu\text{g/dL}$) enquanto que no PC006, a anemia veio bastante tarde e não era muito grave. Na maioria das vezes os resultados da ferritina não eram interpretáveis. PC004 e PC006 morreram com níveis de ferro sérico muito baixos ($< 50 \mu\text{g/dL}$) enquanto que PC005 morreu com um nível de ferro sérico suposto ser normal ($128 \mu\text{g/dL}$).

Os casos de hemosiderose nos damões são frequentes e muitas vezes encontramos esta particularidade mencionada na literatura. Isto deve provir das diferenças entre a alimentação na natureza e a alimentação em cativeiro descrita anteriormente. No entanto, isto não chega para explicar os casos de hemocromatose. A anemia desenvolvida por estes três damões parece estar ligada com um episódio inflamatório ou hemorrágico. Como já foi visto, uma inflamação pode provocar uma anemia, que depois baixa a produção da hepcidina, aumentando ainda a absorção intestinal do ferro. Não esquecer que em caso de uma anemia e de uma sobrecarga em ferro, a produção de hepcidina está na mesma inibida, provocando um aumento da absorção do ferro e podendo agravar a sobrecarga de ferro, visto que o metabolismo do ferro está perturbado pela inflamação. Algum ferro é sequestrado pelas células, o restante fica disponível para o eventual agente infeccioso, agravando a inflamação e por sua vez a anemia. No caso de uma hemorragia gástrica ou intestinal provocada por um parasita, a anemia explica-se bem. Os macrófagos eliminando os glóbulos vermelhos mortos, carregam-se de hemosiderina, provocando uma sobrecarga de ferro. A anemia inibe a hepcidina, o que favorece a absorção intestinal do ferro. Outros factores podem ter um papel na evolução da patologia. Lembramos que as duas fêmeas PC004 e PC005 estavam gestantes durante os seus episódios anémicos. No entanto, a gestação é uma causa frequente de perda de ferro, por transferência ao feto, o que também poderia ter agravado a anemia já existente ou provocar uma. Também há um factor hereditário que poderia ser uma explicação. Um ou vários damões provavelmente tinham uma deficiência hereditária do metabolismo do ferro.

Diagnosticar uma anemia não é difícil visto que uma simples análise de sangue é suficiente, no entanto encontrar a ou as causas de uma anemia pode ser muito mais difícil. O tratamento associado a este género de patologia deve ser estudado minuciosamente, sobretudo nos animais como os damões, que são muito pouco conhecidos. As causas de uma anemia ferropénica são múltiplas. A sua identificação e o seu tratamento devem ser procurados prioritariamente. Nos dois primeiros casos dos damões PC004 e PC005, estava-se frente a uma anemia ferropénica, paradoxalmente com uma sobrecarga de ferro nos tecidos. É de pensar então que um suplemento de ferro, para além de não resolver o problema da anemia também agravou a hemosiderose. É

necessário muita prudência em certos casos com um tratamento do ferro. No caso de PC006, quando o ferro sérico baixou significativamente não havia anemia, mas os leucócitos mostravam grande aumento, sinal de uma infecção ou de uma inflamação. Dados os dois casos precedentes a PC006, a hipótese de uma diminuição do ferro sérico e de uma sobrecarga em ferro paralelo foi posta. Para tentar diminuir a eventual sobrecarga de ferro (não esquecer que as duas primeiras análises sanguíneas de PC006 mostravam níveis de ferro elevados) foi dado um quelante do ferro (Deferoxamina[®]). Mas, como mencionamos antes, para uma acção eficaz, a Deferoxamina deve ser dada por via parenteral e não por via oral, como feito neste caso. No momento da próxima análise sanguínea (quinze dias depois), o macho PC006 apresentava uma anemia ligeira com um nível de ferro sérico correcto (101 µg/dL), mostrando que a quelação do ferro estava sem dúvida a acontecer. Infelizmente, o tratamento não foi prosseguido, enquanto que a quelação do ferro é um processo lento. Alguns meses mais tarde, PC006 apresentava uma anemia ligeira, mas com um nível de ferro sérico muito baixo (47 µg/dL). A nossa hipótese foi mantida e um tratamento com suplementação de ferro e quelante de ferro foi dado, provavelmente tarde demais visto que o damão morreu pouco tempo depois. No tratamento do PC006, tendo em conta os dois casos PC004 e PC005, foi possível desenvolver uma hipótese e elaborar um tratamento, mas sem grande sucesso. Isto mostra uma vez mais que outros factores podem desempenhar um papel importante neste género de patologia.

A literatura ensina-nos que os damões em cativeiro desenvolvem muitas vezes hemossideroses mais ou menos graves. O estudo destes três casos demonstra que, para que uma eventual sobrecarga de ferro provoque um caso de hemocromatose, deve haver a conjugação de outros factores. Um organismo com uma sobrecarga de ferro é mais frágil face a infecções, e uma infecção e/ou inflamação provoca uma anemia que baixa a produção de hepcidina que por sua vez aumenta a absorção intestinal do ferro. Este fenómeno deve ter um papel importante na evolução da patologia nestes casos. A gravidez das duas fêmeas PC004 e PC005 também foi certamente uma causa da diminuição do ferro sérico. Pode-se adicionar a isto uma desregulação provável da absorção intestinal do ferro (hereditária ou ligada à alimentação) e há múltiplas causas que podem explicar estes casos. O problema é que cada caso não é uma consequência de uma só destas causas, mas uma conjugação de várias delas (e talvez de várias outras desconhecidas) deixando o diagnóstico e o tratamento muito difícil de elaborar.

V - Conclusão

A hemocromatose nos damões dos rochedos é um fenómeno complexo e multifactorial. Complexo porque faz intervir quase exclusivamente factores pouco conhecidos. Um fenómeno multifactorial, porque como se disse durante todo este estudo, muitos fenómenos parecem estar correlacionados com o desenvolvimento da patologia. Começa-se a discernir alguns, outros são simples hipóteses ainda para serem verificadas e alguns são talvez ainda desconhecidos. Através deste exemplo, vemos que apesar de todos os esforços fornecidos pelos parques zoológicos para conservar as espécies num meio que se parece o mais possível com o meio natural, as diferenças, mesmo mínimas, entre as condições de vida natural e em cativeiro podem chegar ao aparecimento de novas patologias ou acentuar o risco de outras patologias raras na natureza. Assim, os parques zoológicos são importantes instituições para levar os projectos de conservação das espécies, de reintegração no meio natural ou projectos de pesquisas, e o trabalho de um veterinário num parque zoológico consiste principalmente em procurar meios para adoptar eficazmente métodos e tratamentos conhecidos a espécies pouco conhecidas.

Bibliografia

Autenrieth I B, Bohn E, Ewald J H, Heesemann J (1995) “Deferoxamine B but not deferoxamine G1 inhibits cytokine production in murine bone marrow macrophages” **The Journal of Infectious Diseases**, 172(2), 490-496

Boelaert J R, De Locht M, Van Cutsem J, *et al* (1993) “Mucormycosis during deferoxamine therapy is a siderophore-mediated infection: in vitro and in vivo animal studies” **The Journal of Clinical Investigation**, 91(5), 1979-1986

Collins D (2003) “Hyracoidea (Hyraxes)” in Fowler M.E (Ed.) **Zoo and Wild Animal Medicine**, 5th Edition, W B Saunders, 550-558

Feldman BF, Kaneko JJ, Farver TB (1981) “Anemia of inflammatory disease in the dog: Availability of storage iron in inflammatory disease” **American Journal of Veterinary Research**, 42, 586-589

Ganz T (2003) “Hepcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation” **Blood**, 102(3), 783-788

Ganz T, Nemeth E (2006) “Regulation of iron acquisition and iron distribution in mammals” **Biochimica et Biophysica Acta**, 690-699

Griner LA (1987) “Hyraxes (Hyracoidea)” in Fowler M.E (Ed.) **Zoo and Wild Animal Medicine**, 2nd Edition, W B Saunders, 600-603

Knutson M, Wessling-Resnick M, “Iron metabolism in the reticuloendothelial system” **Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology**, 38(1), 61-68

Loréal O, Troadec MB, Courselaud B, Brissot P (2002) “Le métabolisme du fer : de nouveaux gènes pour des pathologies historiques” **Journées de Diabétologie**, Flammarion Médecine-Sciences.

Lowenstine L.J, Munson L (1999) “Iron overload in the animal kingdom” in Fowler M.E (Ed.) **Zoo and Wild Animal Medicine**, 4th Edition, W B Saunders, 260-268.

McDonald D (2006) “Nutrition and iron storage disease” **Nutritional Influences on Health and Disease**.

Wallach J D, Boever W J (1983) “Hyrax” in **Diseases of Exotic Animals: Medical and Surgical Management**, W B Saunders, 677-685.

Anexos

Anexo I : Valores de Referência

Análise	Unidade	Média	Desvio padrão	Valor Mínimo	Valor Máximo	Tamanho Amostra^a	Animais^b
Contagem Leucócitos	*10 ³ /μL	13,19	5,081	4,8	27,50	180	119
Hemácias	*10 ⁶ /μL	6,77	1,03	4,25	9,31	162	109
Hemoglobina	g/dL	12	1,9	7,4	16,4	167	111
Hematócrito	%	39,6	6,5	24	55,1	184	119
Volume Globular médio	fL	59,6	5	45,2	73,3	162	109
Hemoglobina Globular média	Pg/célula	18,2	1,3	15,5	24,5	157	107
Concentração hemoglobina globular média	g/dL	30,5	2,3	20	44,2	167	111
Contagem de plaquetas	*10 ³ /μL	271	135	96	949	73	52
Reticulócitos	/100 leucócitos	1	0	1	1	5	5
Neutrófilos Segmentados	*10 ³ /μL	7,052	3,616	0,372	18,6	172	117
Linfócitos	*10 ³ /μL	4,627	2,996	0,624	20,1	171	115
Monócitos	*10 ³ /μL	0,779	0,718	0,001	5,989	166	112
Eosinófilos	*10 ³ /μL	1,096	1,055	0,001	8,237	161	109
Basófilos	*10 ³ /μL	0,188	0,120	0,067	0,496	19	14
Bandas netrofilicas	*10 ³ /μL	0,27	0,134	0,13	0,492	10	10

Cálcio	mg/dL	10,1	1,1	6,6	13	144	103
Fósforo	mg/dL	5,3	1,5	1,9	10,9	126	93
Sódio	mEq/L	149	4	136	162	126	89
Potássio	mEq/L	4	0,6	2,6	6	123	87
Cloro	mEq/L	109	5	97	120	123	87
Bicarbonato	mEq/L	20,3	4,8	11	30	15	11
Dióxido de Carbono	mEq/L	20,8	5	11	30	63	42
Osmolaridade	mOsmol/L	301	8	285	317	19	15
Magnésio	mg/dL	1,91	0,58	1,2	2,6	8	8
Nitrogénio Ureia sanguínea	mg/dL	22	8	8	47	163	107
Creatinina	mg/dL	1	0,4	0,4	2,9	139	95
Ácido Úrico	mg/dL	0,4	0,2	0,1	1,6	49	35
Bilirubina Total	mg/dL	0,5	0,3	0	1,5	152	102
Bilirubina Directa	mg/dL	0,1	0,1	0	0,4	32	25
Bilirubina Indirecta	mg/dL	0,2	0,2	0	1,2	32	25
Glucose	mg/dL	105	51	20	377	162	107
Colesterol	mg/dL	115	68	42	575	116	82
Triglicerídeos	mg/dL	68	48	19	269	81	57
Creatinina fosfoquinase	IU/L	1768	2067	177	9940	77	61
Deshidrogenase Láctica	IU/L	415	206	162	1310	62	40
Fosfatase Alcalina	IU/L	190	106	50	754	137	95
Alanina Amino- transferase	IU/L	19	12	0	60	144	100
Aspartato Amino- transferase	IU/L	25	21	0	116	153	103

Gama Glutamil-transferase	IU/L	46	23	0	103	87	61
Amilase	U/L	2518	1157	548	5238	40	34
Lipase	U/L	31	24	4	100	18	16
Proteínas totais (calorimetria)	g/dL	6,4	0,8	3,8	8,6	152	103
Globulina (calorimetria)	g/dL	1,9	0,9	0,2	4,1	115	83
Albumina (calorimetria)	g/dL	4,7	1	2,3	7,6	115	83
Temperatura Corporal	°F	98,1	2	93,2	104	71	54

^a Número de amostras utilizadas para calcular os valores de referência

^b Número de indivíduos diferentes a contribuírem para a amostra

Anexo II : Resultados das análises sanguíneas

Nome	14/12/2004	27/04/2005	09/02/2006
Hemácias	3.810.000 /mm ³	3.490.000 /mm ³	3.940.000 /mm ³
Hemoglobina	7,5 g/dL	7,3 g/dL	6,8 g/dL
Hematócrito	24,5%	25,1 %	23,7 %
Leucócitos	14 500 /mm ³	9 100 /mm ³	18 800 /mm ³
Neutrófilos	90% ou seja 13 050 /mm ³	40% ou seja 3640 /mm ³	83% ou seja 15 604 /mm ³
Linfócitos	6% ou seja 870 /mm ³	48% ou seja 4 368 /mm ³	12% ou seja 2 256 /mm ³

Ferro sérico	69 µg/dL	67 g/dL	35 µg/dL
Creatinina plasmática			5 mg/L

Resultados das análises de PC004

Nome	02/12/2004	14/12/2004	07/01/2005	26/01/2005	27/04/2005	09/02/2006
Hemácias	2.940.000 /mm3	3.140.000 /mm3	2.680.000 /mm3	3.360.000 /mm3	5.070.000 /mm3	5.210.000 /mm3
Hemoglobina	6,2 g/dL	6,7 g/dL	5,8 g/dL	7,1 g/dL	10,1 g/dL	10,8 g/dL
Hematócrito	19,8 %	21,6 %	18,9 %	23,3 %	33,6 %	35,3 %
Leucócitos	13 300 /mm3	14 100 /mm3	5 200 /mm3	8 400	7 800 /mm3	6 600 /mm3
Neutrófilos	75 % ou seja 9 975 /mm3	84% ou seja 11 844 /mm3	40 % ou seja 2 080 /mm3	65 % ou seja 5 460 /mm3	51% ou seja 3 978 /mm3	59 % ou seja 3 894 /mm3
Creatinina plasmática	9 mg/L	7 mg/L		5 mg/L	6 mg/L	5 mg/L
Ferro sérico	64 µg/dL	69 µg/dL	Não há valores	66 µg/dL	170 µg/dL	128 µg/dL
Plaquetas	382 000 /mm3					422 000 /mm3

Resultados das análises de PC005

Nome	12/04/2007	26/04/2007	26/02/2008	11/03/2008	10/06/2008
Hemácias	5.840.000 /mm ³	5.580.000 /mm ³	5.810.000 /mm ³	4.250.000 /mm ³	4.710.000 /mm ³
Hemoglobina	11,7 g/dL	11,3 g/dL	11,6 g/dL	8,8 g/dL	9,3 g/dL
Hematócrito	37,7 %	35,9 %	37,4 %	27,8 %	29,8 %
Leucócitos	23 900 /mm ³	10 900 /mm ³	21 600 /mm ³	15 700 /mm ³	12 800 /mm ³
Neutrófilos	87% ou seja 20 793 /mm ³	46 % ou seja 5 014 /mm ³	83 %ou seja 17 928 /mm ³	75 % ou seja 11 775 /mm ³	78 % ou seja 9 984 /mm ³
Linfócitos	9% ou seja 2 151 /mm ³	37 % ou seja 4 033 /mm ³	3 %ou seja 648 /mm ³	17 %ou seja 2 669 /mm ³	18 % ou seja 2 304 /mm ³
Ferro sérico	94 µg/dL	194 µg/dL	61 µg/dL	101 µg/dL	47 µg/dL
Creatinina plasmática	13 mg/L	10 mg/L	11mg/L	6 mg/L	9 mg/L
Bilirubina total	30 mg/L	6 mg/L		< 3 mg/L	< 3 mg/L
Bilirubina directa	8 mg/L	< 3 mg/L		< 3 mg/L	< 3 mg/L
Bilirubina indirecta	22 mg/L				
ASAT		87 UI/L	50 UI/L	31 UI/L	41 UI/L

ALAT		66 UI/L	13UI/L	15 UI/L	10 UI/L
------	--	---------	--------	---------	---------

Resultados das análises de PC006

Anexo III : Situação no “Parc Zoologique d’Amnéville”

Número de damões vivos	Número de mortes (desde Agosto 2000)	Causas da morte	Número de transferidos (desde Agosto 2000)	Número total de damões (desde Agosto 2000)
8 (3 machos e 5 fêmeas)	25	Yersiniose : 9 Hemocromatose : 4 Coccidiose : 2 Malnutrição : 1 Outros : 5 Desconhecida : 4	5	38

Desde Março de 2001, foram registados 33 nascimentos no “Parc Zoologique d’Amnéville” e ainda 9 nados mortos.