

CALEMIA EM CÃES*

Introdução

Uma definição bastante simples para o termo calemia é a de que é a concentração de potássio no sangue, medida através de análises laboratoriais. O potássio desempenha importantes funções no organismo, principalmente de estimulação elétrica e de regulação do equilíbrio osmótico sendo de suma importância a sua manutenção em níveis estáveis.

Neste trabalho serão abordados alguns assuntos envolvendo a calemia em cães, para tanto será feita uma breve apresentação sobre as funções e metabolismo do potássio, distúrbios envolvendo este mineral, particularidades de algumas espécies, maturação dos reticulócitos em eritrócitos e mecanismos de transporte de íons através da membrana deste até chegarmos, finalmente, nas particularidades da espécie canina e dentro desta, nas particularidades de algumas raças asiáticas de cães, sendo a mais conhecida em nosso país a raça Akita. O estudo dos fatores abordados inicialmente será fundamental para o entendimento da parte final, na qual efetivamente serão abordadas as peculiaridades da espécie canina no que diz respeito a sua calemia.

O objetivo principal do presente trabalho é estudar as características da calemia na espécie canina, com especial enfoque para as particularidades observadas em determinados grupos raciais ou populações desta espécie.

O potássio

O potássio é um íon, primordialmente intracelular (98% está localizado intracelularmente) (Carlson, 1989). Esta distribuição do potássio está ligada ao transporte ativo de sódio através da bomba Na-K-ATPase na membrana, que promove a expulsão do sódio das células e a captação de potássio (Motta, 2000).

As células musculares constituem de longe o maior reservatório corpóreo de K^+ , armazenando de 2.300 a 3.000 mEq do íon (o que faz com que a massa muscular influencie profundamente a quantidade corpórea de K^+). Esse predomínio não chega a surpreender, considerando o importante papel que o K^+ desempenha no processo de contração muscular. Já as células ósseas abrigam cerca de 300 mEq, os hepatócitos e as hemácias em conjunto contribuem com cerca de 500 mEq, enquanto todo o restante das células é responsável por 300 mEq.

*Seminário apresentado pelo aluno CÁSSIO ANDRÉ WILBERT na disciplina BIOQUÍMICA DO TECIDO ANIMAL, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, no primeiro semestre de 2009. Professor responsável pela disciplina: Félix H. D. González.

Apesar de ser o principal cátion líquido intracelular, devido a sua influência sobre a atividade muscular, principalmente no músculo cardíaco, o K é também um constituinte muito importante do líquido extracelular. No interior das células, tem função parecida com a do sódio no líquido extracelular, influenciando o equilíbrio ácido-básico e a pressão osmótica, incluindo a retenção de água. Concentrações elevadas de potássio intracelular são essenciais para várias funções metabólicas importantes, incluindo a biossíntese de proteínas pelos ribossomos. Inúmeras enzimas, incluindo a piruvato-quinase, requerem potássio para a atividade máxima (Carlson, 1989).

Participa da excitação neuro-muscular, o que não se deve somente a concentração do potássio, mas também a relação do teor de K intra e extracelular que é determinante do potencial de membrana. Mudanças na concentração de potássio que alteram a relação entre potássio intra e extracelular, alteram o potencial de membrana (Carlson, 1989). Este potencial permite a geração do potencial de ação necessário para a função neural e muscular. Deste modo, tanto aumentos como reduções no nível de potássio plasmático podem desequilibrar a relação, provocando arritmias cardíacas e paralisia muscular (Motta, 2000).

Durante a despolarização, ocorre grande influxo de Na^+ para dentro da célula. Já na repolarização e hiperpolarização, que é o período no qual a célula é refratária a qualquer novo estímulo elétrico, ocorre a abertura de canais de potássio, que acaba deixando a célula devido à diferença em seu gradiente de concentração (Linden, 1999) (Figura 1).

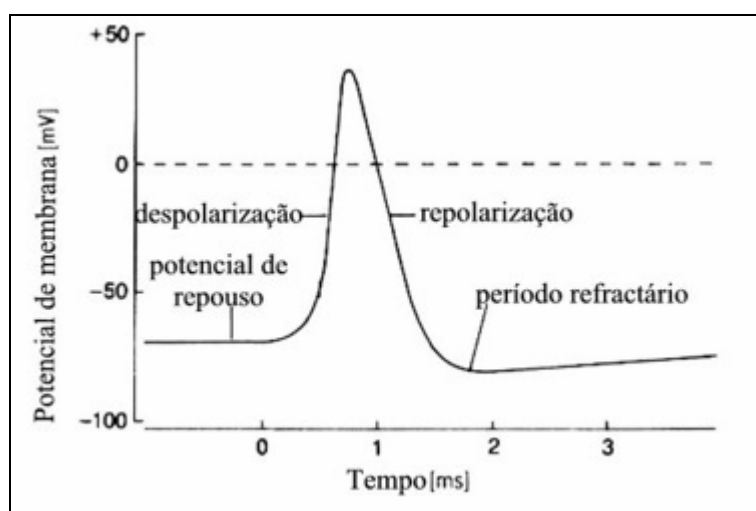


Figura 1. Estimulação elétrica das células nervosas. Enquanto a entrada de Na^+ é responsável pela despolarização, a saída de K^+ é o principal mecanismo desencadeador da repolarização e hiperpolarização do potencial de ação (adaptado de Linden, 1999).

Embora o K atinja o intestino junto com os sucos digestivos, posteriormente é reabsorvido em grande parte. Os rins são os principais órgãos de excreção do potássio. Além de ser filtrado pelos glomérulos renais, também é secretado pelos túbulos (Harper, 1994). A quantidade de

potássio excretado na urina varia com o conteúdo da dieta e o controle da excreção de potássio é realizado por mecanismos não totalmente esclarecidos (Perazzella & Mahnensmith, 1997):

- quase todo K^+ filtrado pelo glomérulo é reabsorvido no túbulo proximal. Menos de 10% atinge o túbulo distal, onde ocorre a principal regulação desse íon. A excreção do K^+ em resposta a variações na ingestão tem lugar no túbulo distal e ocorre no túbulo coletor do córtex e ducto coletor;
- quando o Na^+ é reabsorvido no túbulo distal, o lúmen tubular torna-se eletronegativo em relação às células adjacentes e os cátions das células (K^+ , H^+) movem-se para o lúmen e neutralizam a carga elétrica negativa. A velocidade do movimento do K^+ para o lúmen depende da existência de captação suficiente de Na^+ pelo túbulo distal, bem como, da velocidade do fluxo urinário e da concentração do K^+ na célula tubular;
- a concentração do K^+ na célula tubular deriva grandemente da enzima Na-K-ATPase dependente para a troca com líquido peritubular.

A aldosterona desempenha importante papel na secreção de potássio (e reabsorção de sódio) por modular a atividade da Na-K-ATPase e por fechar os canais de transporte específicos para sódio e potássio da membrana luminal. A ação da aldosterona leva a abertura destes canais e estimula a Na-K-ATPase. Se a aldosterona está deficiente, o transporte através da bomba de Na-K-ATPase diminui e os canais de íons específicos permanecem fechados (Perazzella & Mahnensmith, 1997).

A Figura 2 ilustra como esses processos ocorrem nas células principais do túbulo coletor. As chamadas células principais dos túbulos coletores, bem como as da porção final do túbulo distal (túbulo de conexão e coletor cortical inicial), captam ativamente o K^+ , como todas as demais células tubulares, através da ação da Na-K-ATPase presente na membrana basolateral. O K^+ é posteriormente secretado para a luz tubular através de canais específicos situados na membrana luminal. Esse movimento é extremamente favorecido pelo gradiente eletroquímico de K^+ entre o interior da célula e o lúmen tubular: em primeiro lugar, a concentração de K^+ no interior da célula é mais de 30 vezes superior à do lúmen. Em segundo lugar, a diferença de potencial elétrico entre o interior da célula e o lúmen é relativamente baixa (ou seja, o interior da célula é pouco negativo em relação ao lúmen) devido à entrada de Na^+ através da membrana luminal, facilitada pela presença nessa membrana de canais específicos para Na^+ . É comum denominar a esse processo “troca de Na^+ por K^+ ”. Embora estejam realmente ocorrendo movimentos de Na^+ e de K^+ em sentidos opostos, não se trata de uma troca no sentido estrito do termo, uma vez que inexistem na membrana luminal das células principais contra-transportadores ou qualquer outra estrutura que acople a saída de K^+ à entrada de Na^+ . É, portanto, mais correto afirmar que a entrada de Na^+ favorece a saída de K^+ na porção final do túbulo distal e no túbulo coletor

cortical. Apesar dessa característica eminentemente secretora da porção final do túbulo distal e do túbulo coletor cortical, ocorre também absorção de K^+ nesses segmentos, principalmente na porção medular do túbulo coletor, através das células intercaladas do tipo α . Essas células possuem uma ATPase especial em sua membrana luminal, a qual promove a entrada de um íon K^+ acoplada à saída de um íon H^+ .

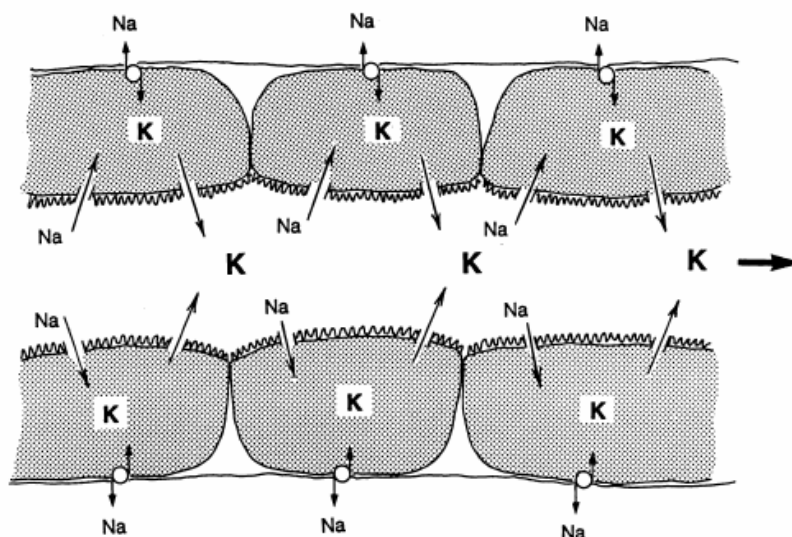


Figura 2. Célula principal, localizada no túbulo coletor cortical do néfron. A bomba Na-K-ATPase está localizada na superfície basolateral (pericapilar), enquanto os canais de Na^+ e de K^+ estão localizados na superfície apical (lúmen) da célula (Perazzella & Mahnensmith, 1997).

A capacidade dos rins excretarem potássio é tão grande que não haverá hipercalemia, mesmo após a ingestão ou a injeção endovenosa, em velocidade moderada, de quantidades relativamente grandes de potássio, se a atividade renal não estiver prejudicada (Harper, 1994).

Determinação laboratorial da calemia

O potássio é normalmente analisado por potenciometria. A amostra utilizada pode ser soro ou plasma heparinizado ou urina das últimas 24 horas. O soro ou plasma devem ser isentos de hemólise, pois a liberação de potássio dos eritrócitos pode gerar pseudohipercalemia. A amostra deve ser coletada com o mínimo de estase e sem realizar atividade muscular.

Interferências: Valores falsamente elevados são causados por separação incompleta do soro do coágulo, leucoses e plaquetas, acidemia (migração do potássio das células para o líquido extracelular em troca de íons hidrogênio), anfotericina B, heparina, lítio e penicilina. Resultados falsamente reduzidos são observados com aspirina, bicarbonato, cortisona, diuréticos, etanol, tiazidas e excesso de laxantes (Motta, 2000).

Na Tabela 1 são apresentados valores de referência de vários minerais e, em vermelho, a calemia normal de algumas espécies.

Os principais distúrbios metabólicos relacionados com a concentração de potássio no plasma sanguíneo são a hipercalemia e a hipocalemia. Sempre deve ser considerado que os valores de referência podem ser diferentes entre regiões e laboratórios, dessa forma, o ideal é que cada laboratório formule seus próprios parâmetros de normalidade. Estes distúrbios serão discutidos de maneira bastante breve neste trabalho.

Tabela 1. Valores de referência para alguns minerais em várias espécies.

Mineral	Caninos	Felinos	Bovinos	Eqüinos	Ovinos
Cálcio (mg/dL)	9,0-11,3	6,2-10,2	8,0-12,4	11,2-13,6	11,5-12,8
Cobre (µg/dL)	100-200		63-140	76-127	58-160
Ferro (µg/dL)	30-180	68-215	57-162	73-140	166-221
Fósforo (mg/dL)	2,6-6,2	4,5-8,1	3,4-7,1	3,1-5,6	5,0-7,3
Magnésio (mg/dL)	1,8-2,4	1,4-3,1	1,7-3,0	2,2-2,8	2,2-2,8
Potássio (mmol/L)	4,4-5,3	4,0-4,5	3,9-5,8	2,4-4,7	3,9-5,4
Sódio (mmol/L)	141-152	147-156	132-152	132-146	139-152

Hipocalemia

É uma diminuição na concentração de potássio no sangue em relação aos valores de referência: perdas superam ingestão de potássio. Normalmente, não tem causa nutricional e é fruto de perdas por vômitos ou diarreia. Perdas renais excessivas podem ocorrer como resultado do uso de diuréticos, excesso de mineralocorticóides, ou acidose tubular renal e pode ser observada na diurese que segue a uma obstrução urinária. Pode levar a uma diminuição no volume do fluido intracelular, alterar o potencial de membrana e o pH intracelular, além de alterar as atividades de reações mediadas por enzimas dependentes de potássio (Carlson, 1989).

Alcalose aguda pode provocar hipocalemia através da movimentação de potássio do fluido extracelular. As catecolaminas têm um efeito bifásico na concentração de potássio. A resposta inicial é um modesto incremento no potássio como resultado da estimulação α -adrenérgica seguida por uma hipocalemia como resultado da resposta dos receptores β -adrenérgicos.

SINAIS CLÍNICOS: sinais neuromusculares aparecem em níveis de potássio inferiores a 2,5 mEq/L. Fraqueza muscular e anormalidades na condução cardíaca eventualmente ocorrem como resultado do bloqueio da hiperpolarização na junção neuromuscular. Outros sinais incluem paralisia, paresia, letargia, confusão, incapacidade para concentrar urina, intolerância a carboidratos, anorexia, vômitos, etc.

TRATAMENTO: envolve a correção da causa primária e, eventualmente, correção com soluções de KCl administradas lentamente para evitar arritmia cardíaca. O tratamento com

fluidos é indicado quando a concentração de potássio no plasma for menor do que 3 mmol/L ou dependendo dos sintomas (González & Silva, 2006).

Tabela 2. Principais causas de hipocalemia.

Hipocalemia devida a alterações no balanço externo

Perdas gastrointestinais

Vômitos

Diarréia

Perdas renais

Excesso de mineralocorticóides

Diuréticos

Acidose tubular renal

Diurese pós-obstrução

Deficiência dietética

Hipocalemia devida a alterações no balanço interno

Administração excessivamente rápida de bicarbonato

Insulina com a administração de glicose

Liberação de catecolaminas

Fonte: Carlson (1989)

Hipercalemia

Excesso de potássio no sangue em relação aos valores de referência: raramente ocorre. Geralmente é consequência de alguma alteração renal. Também pode estar associado à doença de Addison.

A concentração sérica de potássio nem sempre reflete o seu balanço, mas é influenciada por fatores que alteram a distribuição de potássio através da membrana ou que alteram seu consumo ou excreção.

Pode ser resultado de hemólise ou armazenamento prolongado de amostras de sangue antes da separação de soro ou plasma (pseudohipercalemia) em animais com alta concentração de potássio em seus eritrócitos. Exceto em algumas raças de cães, a hemólise tem pouco efeito sobre a concentração de potássio plasmático em cães e gatos.

Pode estar associada com retenção renal excessiva em condições como a doença de Addison, falha renal aguda, e parada renal secundária a uma quantidade inadequada de fluido circulante. Em muitos casos é resultado do movimento do potássio intracelular para o fluido extracelular. Também pode ser observada em indivíduos com diabetes ou grande necrose muscular. Em decorrência da grande relação entre o pH sanguíneo e a concentração de K, na avaliação de seu

nível sérico, devem ser considerados os efeitos sofridos com mudanças de pH. Quando o pH sérico baixa, o K sérico aumenta, pois a célula perde este íon para o meio extracelular e intravascular. Quando o pH sobe, o K sérico diminui, porque retorna para o interior da célula. Estima-se que o K sérico diminui 0,3 mEq/L para cada 0,1 U.I. de aumento do pH normal. Na Tabela 3 são apresentadas as principais causas de hipercalemia.

Tabela 3. Principais causas de hipercalemia.

Falsa hipercalemia (pseudohipercalemia)

Hemólise

Contagem elevada de leucócitos ou plaquetas

Hipercalemia devida a alterações no balanço externo

Doença de Addison

Doença renal

Hipovolemia com falha renal

Hipercalemia devida a alterações no balanço interno

Acidose metabólica

Diabetes

Necrose tissular

Exercício vigoroso

Fonte: Carlson (1989)

SINAIS CLÍNICOS: são representados, principalmente, pela depressão cardíaca e do sistema nervoso central, estando relacionados ao teor de potássio no plasma e não ao aumento intracelular. Os sinais cardíacos compreendem bradicardia e ruídos fracos, seguidos de colapso vascular periférico e, finalmente, parada cardíaca. As alterações eletrocardiográficas são características e incluem elevação das ondas T, alargamento do complexo QRS, alongamento progressivo do intervalo P-R e, depois, desaparecimento da onda P. Outros sintomas incluem confusão mental, fraqueza, dormência e formigamento das extremidades, fraqueza dos músculos respiratórios e paralisia flácida das extremidades (Harper, 1994).

TRATAMENTO: o tratamento (com potássio no plasma superior a 7 mmol/L) envolve o tratamento da causa primária e/ou fluidoterapia. Em acidoses recomenda-se solução de bicarbonato de sódio e na obstrução urinária recomenda-se a aplicação de insulina e de glicose (González & Silva, 2006).

Conforme já relatado, uma das principais causas de hipercalemia é a hemólise ou armazenamento prolongado de amostras de sangue antes de a análise ser realizada. Essa dita “pseudohipercalemia” pode ser ainda mais acentuada em animais com alta concentração de potássio no interior dos eritrócitos. Em algumas espécies de mamíferos normalmente há uma

maior concentração de potássio intracelular com uma maior concentração de sódio no meio extracelular, enquanto outras espécies, sobretudo carnívoros e ovinos, possuem uma maior concentração intracelular de sódio do que de potássio. Entretanto, há vários relatos de que cães sem nenhuma sintomatologia de qualquer distúrbio relacionado ao potássio, possuam uma maior concentração de potássio do que de sódio no interior das hemácias. Esta mesma característica também foi observada em alguns ovinos. Os animais apresentando este fenótipo foram denominados de HK (alta concentração de potássio nos eritrócitos) enquanto os indivíduos com baixa concentração de potássio foram classificados como LK. Estas particularidades serão discutidas a partir de agora, mas antes de entrar em detalhes é necessário conhecer um pouco mais sobre os eritrócitos, especialmente sobre aspectos relacionados ao transporte de íons através de sua membrana, pois é necessário conhecer um pouco sobre esta célula e sobre seus mecanismos de troca de íons para conseguir entender quais alterações são responsáveis por essa expressão fenotípica diferenciada em alguns indivíduos.

Eritrócitos

Os eritrócitos, também chamados de hemácias ou glóbulos vermelhos, são células únicas que executam funções vitais no organismo. O objetivo primário desta célula é o transporte de hemoglobina (Hb), visto que esta proteína está associada a outras funções como o transporte de oxigênio (O_2), transporte de dióxido de carbono (CO_2) e tamponamento dos íons de hidrogênio (H^+). Estas funções requerem energia sob a forma de ATP (adenina trifosfato).

A estrutura primária da membrana dos eritrócitos maduros é uma bicamada de fosfolípidos arranjadas com as cadeias hidrofóbicas dos hidrocarbonetos dos ácidos graxos para o centro e as terminações polares das moléculas em contato tanto com o meio intra quanto extracelular. Moléculas insaturadas de colesterol são intercaladas entre cadeias de ácidos graxos em uma concentração aproximadamente igual à observada para os fosfolípidos. Os fosfolípidos estão assimetricamente arranjados com fosfatidilserina aniônica localizada na camada interior da membrana. A maioria dos fosfolípidos contendo colina, fosfatidilcolina e esfingomielina estão localizados na camada externa (Harvey, 1989).

A bicamada lipídica é impermeável à maioria das moléculas e, conseqüentemente, vários sistemas de transporte são utilizados para movimentar as moléculas para dentro e para fora dos eritrócitos (Harvey, 1989).

Como pode ser observado na Tabela 4 e conforme comentado anteriormente, os eritrócitos maduros de grande parte dos mamíferos possuem uma alta concentração de K^+ e pouco Na^+ em seu meio intracelular (humano, cavalo, suíno e alguns ruminantes). Entretanto, há espécies com baixo conteúdo de potássio dentro dos eritrócitos (alguns ovinos, cabras, búfalos, cães, gatos e a

maioria dos bovinos) e alto conteúdo de sódio (Harvey, 1989). E até mesmo na mesma espécie são observadas diferenças quanto à concentração de potássio no interior dos eritrócitos.

Pode ser observado que a concentração de K^+ nos eritrócitos varia de 135 mmol/L nos eritrócitos humanos até 6-8 mmol/L nos eritrócitos de cães e gatos, enquanto a concentração de Na^+ intracelular varia de 13 mmol/L em ovinos HK até 142-162 mmol/L em cães e gatos.

Tabela 4. Concentração média de Na^+ e K^+ no meio intracelular dos eritrócitos e no plasma (extracelular) de diferentes espécies de mamíferos.

Espécie	Intracelular (mmol/L)		Extracelular (mmol/L)	
	Na^+	K^+	Na^+	K^+
Humano	17-21	135-155	138-155	3,7-5,5
Coelho	22	142	125-150	5,1-5,5
Rato	28	135	118-152	2,7-5,9
Cavalo	16	140	139-152	3,51-5,2
Ovino				
HK	13	124		
LK	119	17	145	4,8
Cão	135-162	8-10	146-165	4,6-5
Gato	142	6-8	151-158	4,1-4,6
Suíno	11	100	142	4,8

HK = alta concentração de potássio

LK = baixa concentração de potássio

Adaptado de Harvey (1989) e Freedman (2001)

Esta característica está diretamente relacionada ao desenvolvimento dos eritrócitos e as alterações na membrana celular e, conseqüentemente, ao transporte de íons através de sua membrana. A maturação do reticulócito em eritrócito é um processo gradual que requer uma quantidade variável de dias dependendo da espécie envolvida. Conseqüentemente as propriedades morfológicas e fisiológicas dos reticulócitos variam com seu estágio de maturidade. A superfície celular é constantemente remodelada com perda de material da membrana e, por último, a formação bicôncava característica (Harvey, 1989).

Durante sua maturação, os reticulócitos perdem grande parte de suas proteínas de membrana. O tipo e extensão destas perdas são espécies-dependentes. Por exemplo, em muitas espécies, a maioria das bombas de Na^+ são perdidas, permanecendo cerca de 100 bombas por célula, mas animais da ordem carnívora perdem todas as suas bombas (Gatto & Milanick, 2009).

Duas maneiras pelas quais esta perda de bombas de Na^+ ocorre são propostas: 1) as bombas são endocitadas, então são armazenadas em estruturas multivesiculares e então liberadas como exossomas; 2) liberação direta de vesículas com bombas de Na^+ da membrana plasmática (ectocitose) (Gatto & Milanick, 2009).

Transportadores de membrana nos eritrócitos

Apesar de outras vias de transporte de sódio e potássio ocorrerem em graus variáveis em certas espécies (difusão passiva, co-transporte de sódio e potássio, transporte de ânions como bicarbonato de sódio através da banda 3, co-transporte de potássio e cloro, e um canal de potássio dependente de cálcio)(Harvey, 1989), o principal transportador de íons através da membrana eritrocitária é a bomba Na-K-ATPase.

Nas hemácias humanas e em animais com alta concentração de potássio no meio intracelular, a Na-K-ATPase seleciona K^+ do meio rico em Na^+ e o bombeia contra seu gradiente de concentração. Este mesmo bombeamento contra o gradiente de concentração ocorre com o Na^+ . Este transporte ativo de três moléculas de Na^+ intracelular por duas de K^+ extracelular usa energia proveniente da hidrólise de ATP que resulta em ADP e fosfato inorgânico. Quando o nível de potássio é estabilizado, ao mesmo tempo em que este entra na célula, uma pequena parte deste íon deixa a célula devido a seu gradiente de concentração extremamente favorável para este processo. O mesmo ocorre com o Na^+ (Freedman, 2001). Dessa forma há uma estabilização na concentração de sódio e potássio no meio intra e extracelular.

As maiores variações interespecies e, em alguns casos intraespecies, na concentração de sódio e potássio ocorrem justamente no transporte de cátions. Como o homem, aquelas espécies com altas concentrações intracelulares de potássio (cavalo, suíno e alguns ruminantes) tem bombas de sódio ativas que trocam sódio intracelular por potássio extracelular com hidrólise de ATP. Entretanto, há espécies com baixo conteúdo de potássio dentro dos eritrócitos (alguns ovinos, cabras, búfalos e a maioria dos bovinos) e alto conteúdo de sódio. Essas espécies com baixa concentração de potássio têm uma atividade ATPásica muito pequena ou, até mesmo, nula (Tabela 5) e alta permeabilidade (transporte passivo) ao potássio (Harvey, 1989).

Tabela 5. Atividade ATPásica (mmol/min/100 g Hb) nos eritrócitos de várias espécies.

	Espécie					
	Humano	Cão	Gato	Bovino	Ovino HK LK	Coelho
ATPase	356-558	0	0	77,7	92 23	475

Adaptado de Harvey (1989)

O transporte de cátions nos glóbulos vermelhos através da Na-K-ATPase foi entendido quando pesquisadores observaram níveis muito diferentes na concentração eritrocitária de Na^+ e K^+ em ovinos de dois diferentes fenótipos, designados como alto (HK) e baixo K^+ (LK). Nos eritrócitos dos ovinos HK, foi observado um alto número de bombas de Na-K-ATPase por célula e alto fluxo de Na^+-K^+ nestas bombas (Freedman, 2001).

Outras evidências de que a bomba de Na-K-ATPase é o principal transportador de íons através da membrana eritrocitária são, segundo Freedman (2001):

- 1) a Na-K-ATPase e o controle no transporte de cátions estão localizados na membrana;
- 2) tanto a Na-K-ATPase quanto o transporte de cátions são estimulados pelo ATP e Na^+ intracelular e pelo K^+ extracelular;
- 3) as concentrações de cátions necessárias para a ativação da Na-K-ATPase e para o transporte de cátions são as mesmas;
- 4) glicosídeos cardíacos inibem a Na-K-ATPase e o transporte de cátions sem afetar qualquer outro transportador;
- 5) glicosídeos cardíacos inibem a Na-K-ATPase e o transporte de cátions com uma mesma concentração;
- 6) o K^+ antagoniza os efeitos dos glicosídeos cardíacos tanto na Na-K-ATPase quanto no transporte de cátions;
- 7) a Na-K-ATPase é reversível, e a síntese de ATP ocorre quando os gradientes de concentração de Na^+ e K^+ são reversos.

A maioria dos cães possui eritrócitos com baixa concentração de potássio, conforme pôde ser visto na Tabela 4, em comparação com a concentração intracelular de sódio, devido à ausência de atividade da Na-K-ATPase. Entretanto, alguns cães japoneses e coreanos, clinicamente normais, têm uma alta concentração de potássio devido a uma atividade da Na-K-ATPase geneticamente determinada, semelhante ao relatado nos ovinos HK e por isso passaram a receber a mesma denominação.

As células vermelhas nucleadas imaturas dos cães contêm alta concentração de K^+ e baixa de Na^+ , mas, normalmente, durante sua maturação o transporte ativo de Na^+ e K^+ cessa devido à perda de todas as bombas Na-K-ATPase. A concentração intracelular de Na então é controlada devido a um contra-transporte em que há o influxo de Ca^{2+} e efluxo de Na^+ (Freedman, 2001). Assim, sem haver a atividade da bomba de Na-K, normalmente, é observado um equilíbrio entre a concentração de Na^+ e K^+ intra e extraeritrocitária (Parker, 1973).

Os eritrócitos dos cães HK, normalmente, também possuem altas concentrações de glutathion reduzido (GSH), glutamato, glutamina e aspartato (Harvey, 1989), principalmente porque os eritrócitos caninos têm uma alta afinidade por sistemas de transporte sódio dependentes de glutamato e aspartato. O aumento no transporte destes aminoácidos nos eritrócitos de cães HK intraeritrocitário aparentemente é uma consequência do gradiente de concentração do sódio e do potássio produzido por uma atividade da Na-K-ATPase 3 vezes superior a observada em eritrócitos humanos. A taxa glicolítica em eritrócitos com alto potássio é o dobro da observada nos demais eritrócitos, porque uma maior produção de ATP é necessária para prover energia para o transporte ativo de cátions pela Na-K-ATPase e para incrementar a síntese de GSH, que

tem como função ser o agente redutor da enzima glutathion-peroxidase na redução de hidroperóxidos a álcoois e peróxidos de hidrogênio em água (Harvey, 1989).

Desde que foi detectada a existência do fenótipo HK em cães, os pesquisadores realizaram vários trabalhos com o objetivo de entender o mecanismo pelo qual este fenômeno ocorre. Em muitos estudos o objetivo foi determinar a atividade ATPásica de determinadas células, utilizando a ouabaína como indicador. A ouabaína é um glicosídeo cardíaco e inibe a respiração de muitas preparações de células animais em 50% ou mais. Uma vez que a respiração celular é regulada pela velocidade de hidrólise do ATP intracelular através do mecanismo de controle respiratório da mitocôndria, a forte inibição pela ouabaína significa que grande parte do metabolismo energético é usada para suprir ATP para a bomba Na-K-ATPase (Harper, 1994). Ou seja, pode funcionar como um indicativo da presença e funcionalidade de bombas de Na-K. Estas observações ajudarão na compreensão de fatores comentados posteriormente neste trabalho.

O fenótipo HK em cães

Maede et al. (1983) parecem ter sido os primeiros a perceberem um aumento na concentração de potássio no interior das hemácias de alguns cães, quando estudou o aumento na atividade da enzima GSH de 5 entre 9 cães de uma mesma família. Apesar de não ser o objetivo do trabalho, alguns achados levaram os autores a estudar a relação entre as concentrações de K^+ e GSH no interior dos eritrócitos e observou uma maior concentração de K^+ e menor de Na^+ nos cães com maior concentração de GSH (Tabela 6). A atividade da Na-K-ATPase de membrana de eritrócitos destes cães foi cerca de 3 vezes superior a observada em humanos (Tabela 7). Não houve diferença na concentração plasmática destes íons.

Tabela 6. Concentração de Na^+ e K^+ nas hemácias e plasma de cães com alta ou baixa concentração de GSH nos eritrócitos.

	Concentração de Na^+ e K^+ (mEq/L)			
	Eritrócito		Plasma	
	Na	K	Na	K
Cães com alto GSH (n=5)	54,1 ± 21,6	123,6 ± 5,9	148,9 ± 3,3	4,4 ± 0,3
Cães com normal GSH (n=7)	153,0 ± 44,9	10,7 ± 3,1	148,2 ± 3,4	4,9 ± 0,9

Adaptado de Maede et al. (1983)

Figura 7. Atividade da ATPase de eritrócitos de cães com alto ou normal GSH e em eritrócitos humanos.

	Atividade ATPase ($\mu\text{mol Pi/h/mg proteína}$)	
	ATPase total	Na-K-ATPase
Cães com alto GSH (n=5)	$1,87 \pm 0,19$	$1,09 \pm 0,14$
Cães com normal GSH (n=7)	$0,64 \pm 0,15$	$0 \pm 0,03$
Humanos (n=6)	$0,85 \pm 0,17$	$0,38 \pm 0,10$

Adaptado de Maede et al. (1983)

Os resultados do primeiro experimento levaram Maede & Inaba (1985) a trabalhar com ouabaina como indicador da atividade da Na-K-ATPase. Foi observada uma maior quantidade de moléculas deste glicosídeo estando ligadas nos cães com alta concentração de K^+ e baixa de Na^+ no interior dos eritrócitos, indicando uma grande presença de bombas de Na-K ativas. Na Tabela 8 é possível observar que mesmo nos reticulócitos, que são células ainda imaturas, há uma quantidade muito maior de Na-K-ATPases ativas nos animais com maior concentração de K^+ . No entanto, mesmo nos animais com alto potássio, é possível perceber uma diminuição significativa na atividade da Na-K-ATPase à medida que ocorre a maturação dos reticulócitos (Figura 3).

Tabela 8. Atividade da Na-K-ATPase em cães com fenótipo HK ou LK.

	Reticulócitos (%)	Atividade Na-K-ATPase (nmol ATP hidrolizados/mg proteína/min.)
Eritrócitos de		
HK (n=6)	<0,2	$45,1 \pm 3,03$
LK (n=4)	<0,2	≈ 0
Reticulócitos de		
HK (n=2)	90	134,1
LK (n=2)	95	37,9

Adaptado de Maede & Inaba (1985)

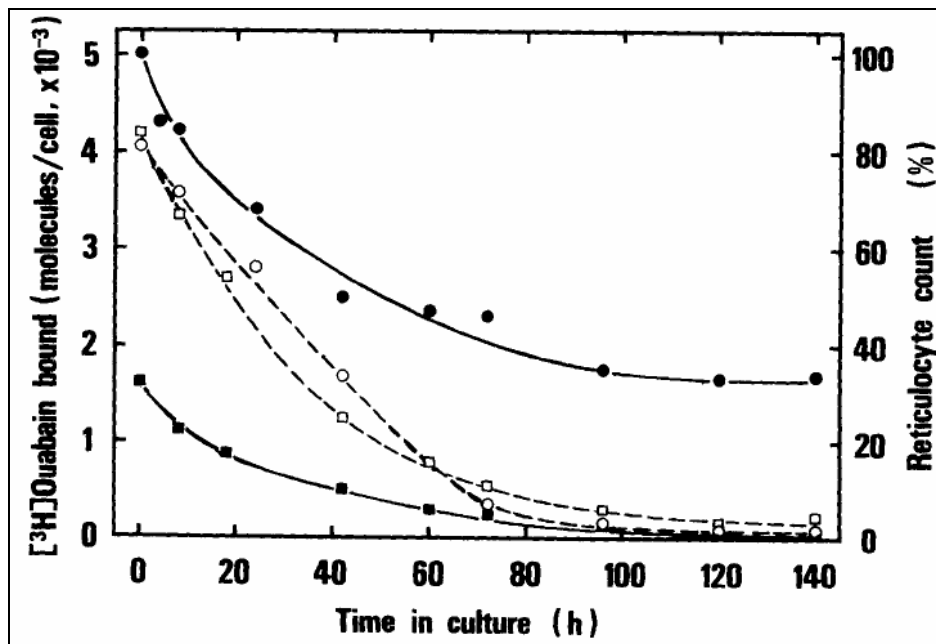


Figura 3. Mudanças na ligação da ouabaína durante maturação dos reticulócitos em eritrócitos. Reticulócitos de HK (○ e ●) e LK (□ e ■) foram separados e cultivados. Posteriormente, alíquotas de células foram removidas e a ligação de ouabaína (● e ■) e contagem de reticulócitos (○ e □) foram estimados. Fonte: Maede & Inaba (1985).

O fenótipo HK e a pseudohipercalemia

Degen (1987) observou hipercalemia em seis de oito cães da raça Akita. O plasma dos cães afetados teve sua calemia aumentada depois da amostra ser refrigerada e estar em contato com as células vermelhas do sangue por 4 horas ou mais. Quanto maior o tempo de contato com as hemácias, maior foi o aumento na concentração plasmática de potássio e também foi observada uma diminuição no conteúdo de sódio. Esse é um caso clássico da chamada falsa hipercalemia ou pseudohipercalemia. Em períodos prolongados de armazenamento, nos quais a bomba de Na-K-ATPase perde sua atividade, os cátions K⁺ e Na⁺ seguem seu gradiente de concentração. Como a concentração de K⁺ nos cães com fenótipo HK é maior no meio intraeritrocitário, este íon deixa a célula aumentando a concentração de potássio no plasma de maneira significativa. Essa saída de potássio ocorre até que o sistema de troca entre em equilíbrio, desde que seja dado o tempo adequado para isso acontecer.

Battison (2007) também relata um caso de pseudohipercalemia em uma fêmea da raça Shar-Pei. Enquanto o nível de potássio no plasma do cão controle foi de 6,7 mmol/L, na fêmea Shar-Pei a concentração de potássio foi de 16,8 mmol/L. Apesar de não haver uma conclusão sobre a causa desse achado, muito provavelmente esta pseudohipercalemia deva-se a uma maior concentração de potássio nos eritrócitos desse cão do que na maioria dos cães, caracterizando um cão HK, pois ela somente foi observada quando as amostras de sangue foram analisadas

depois de, no mínimo, 4 horas de armazenamento. Em análises anteriores, nas quais as amostras foram analisadas imediatamente após a coleta, tal fenômeno não foi observado.

Transmissão genética, prevalência e distribuição do fenótipo HK

Segundo Yamato et al. (1999) o fenótipo HK está ligado a um gene recessivo. Esta hipótese foi confirmada por experimento de Fujise et al. (1997b). Analisando a Tabela 9, pode-se perceber que filhos de cães HK nunca tiveram o fenótipo HK, no entanto o cruzamento de cães LK resultou em alguns filhotes com fenótipo HK.

Tabela 9. Análise da hereditariedade dos fenótipos LK, HK/LG e HK/HG em cães.

Fenótipo da mãe	Fenótipo do pai					
	LK		HK/LG		HK/HG	
	Fenótipo filho	n	Fenótipo filho	n	Fenótipo filho	n
LK	LK	1	LK	6	LK	4
	HK/LG	1	HK/LG	8	HK/LG	2
	HK/HG	1	HK/HG	2	HK/HG	0
	Total	3	Total	16	Total	6
HK/LG	LK	1	LK	0	LK	0
	HK/LG	1	HK/LG	5	HK/LG	2
	HK/HG	0	HK/HG	0	HK/HG	2
	Total	2	Total	5	Total	4
HK/HG	LK	4	LK	0	LK	0
	HK/LG	1	HK/LG	0	HK/LG	0
	HK/HG	0	HK/HG	0	HK/HG	0
	Total	5	Total	0	Total	0

HG = alta concentração de GSH nos eritrócitos

LG = baixa concentração de GSH nos eritrócitos

Adaptado de Fujise et al. (1997b)

A princípio, pensou-se que este gene seria inerente a cães originários do Japão, sobretudo Akitas e mestiços, no entanto, Fujise et al. (1997a) observou este mesmo fenótipo em cães coreanos.

Fujise et al. (1997) estudaram a prevalência de cães com fenótipo para alta concentração de potássio nos eritrócitos e frequência do gene responsável por esta característica (Tabela 10). Os pesquisadores observaram que em 10 das 13 raças ou populações de cães japoneses este fenótipo aparece, com destaque para as raças Akita e as linhagens Shinshu e San'in da raça Shiba (prevalência de 26,3; 34,6 e 37,5%, respectivamente). A frequência do gene é ainda mais impressionante e chegou a 61,2% no San'in Shiba, 58,8% no Shinshu Shiba e 51,3% no Akita. Nas duas raças de cães coreanos e nos cães da ilha coreana de Chejudo, o fenótipo foi observado com uma maior incidência na raça Jindo (42,1%). A frequência do gene nesta raça foi de 65,2%, a maior entre todas as raças e populações estudadas. Nos cães taiwaneses, indonésios, russos ou mongóis não foi detectado nem o fenótipo nem o gene determinante desta característica.

Tabela 10. Incidência dos fenótipos LK e HK nos eritrócitos e sua frequência gênica em grupos de cães de 22 raças ou populações no Japão e Leste asiático próximo ao Japão.

Raça ou população	Local	Número de cães				
		Total	Fenótipo		Frequência gênica	
			LK	HK	LK	HK
Hokkaido ^b	Hokkaido, Japão	40	38	2 (5,00) ^a	0,776	0,224
Akita ^b	Honshu, Japão	38	28	10 (26,3)	0,487	0,513
Shinshu-Shiba ^b	Honshu, Japão	26	17	9 (34,6)	0,412	0,588
Mino-Shiba ^b	Honshu, Japão	34	30	4 (11,8)	0,657	0,343
San'in-Shiba ^b	Honshu, Japão	40	25	15 (37,5)	0,388	0,612
Kai ^b	Honshu, Japão	35	32	3 (8,60)	0,707	0,293
Kishu ^b	Honshu, Japão	40	37	3 (7,50)	0,726	0,274
Mikawa ^b	Honshu, Japão	23	20	3 (13,00)	0,639	0,361
Shikoku ^b	Shikoku, Japão	35	33	2 (5,70)	0,761	0,239
Iki ^c	Kyushu, Japão	40	40	0 (0)	1,000	0,000
Tsushima ^c	Kyushu, Japão	40	40	0 (0)	1,000	0,000
Satsuma ^b	Kyushu, Japão	31	31	0 (0)	1,000	0,000
Ryukyu ^b	Okinawa, Japão	40	39	1 (2,50)	0,842	0,158
Chejudo ^c	Coréia	40	34	6 (15,00)	0,613	0,387
Jindo ^b	Coréia	40	23	17 (42,1)	0,348	0,652
Sapsaree ^b	Coréia	31	29	2 (6,50)	0,746	0,254
Taiwan ^c	Taiwan	40	40	0 (0)	1,000	0,000
Kalimantan ^c	Indonésia	40	40	0 (0)	1,000	0,000
Bali ^c	Indonésia	40	40	0 (0)	1,000	0,000
Sakhalin ^c	Rússia	40	40	0 (0)	1,000	0,000
Mongol ^c	Mongólia	40	40	0 (0)	1,000	0,000
Taiga ^c	Mongólia	28	28	0 (0)	1,000	0,000

a) entre parênteses é indicada a incidência em %.

b) raças puras

c) população de cães de uma determinada localidade

Adaptado de Fujise et al. (1997a)

Outras alterações nos cães HK

Como já citado, outras alterações normalmente são observadas nos cães HK, sobretudo um aumento no GSH e alguns aminoácidos (aspartato, glutamato e glutamina). Alguns transportadores podem servir como transportadores de aminoácidos para prover precursores de GSH. Os glóbulos vermelhos de cães e outros carnívoros possuem alta afinidade por transportadores de Na⁺ dependentes de glutamato e aspartato, enquanto as hemácias da maioria das outras espécies de mamíferos são impermeáveis ao glutamato. Em cães com alto potássio nos eritrócitos, normalmente também é observada uma alta concentração de GSH, e o transporte de Na, dependente de glutamato é incrementado por causa do gradiente de Na, favorável à entrada deste íon e gerado pela bomba de Na-K-ATPase. Nos cães com alto potássio, o aumento

no fluxo de glutamato leva a um aumento na sua concentração, o que resultará numa maior concentração de GSH (Fujise et al., 1995).

Na Tabela 11 são apresentados resultados de trabalho de Yamato et al. (1999) com cães da raça Jindo. A concentração de K^+ nos eritrócitos de cães HK é 1371% superior a observada nos LK, já a concentração de Na^+ é 1203% inferior. Fujise et al. (1997b) observaram uma concentração de K^+ um pouco inferior àquela observada por Yamato et al. (1999) nos eritrócitos: 115 a 119 mmol/L nos cães HK e 8,5 mmol/L nos LK. No entanto, o mais interessante no trabalho de Yamato et al. (1999) é observar a maior concentração de glutamato (33 vezes maior), aspartato (3,8 vezes maior) e glutamina (7 vezes maior) nos cães HK. Os resultados desta pesquisa também demonstram que essa maior concentração de potássio nos eritrócitos de cães HK é determinada pela manutenção de algumas características de reticulócitos imaturos como é o caso da manutenção da atividade de bombas Na-K-ATPase. Nos cães LK não foi observada qualquer atividade deste transportador.

Tabela 11. Comparação de algumas análises hematológicas em cães coreanos da raça Jindo portadores do fenótipo LK ou HK.

	Fenótipo LK	Fenótipo HK
Na nos eritrócitos (mEq/L)**	118,6 ± 5,6 (n=26)	9,1 ± 5,7 (n=9)
K nos eritrócitos (mEq/L)**	8,8 ± 2,0 (n=26)	129,5 ± 4,9 (n=9)
Contagem de eritrócitos ($\times 10^6/\mu\text{L}$)**	8,4 ± 1,0 (n=25)	6,4 ± 1,0 (n=8)
Glutamato nos eritrócitos ($\mu\text{mol/L}$)*	51 ± 24 (n=8)	1687 ± 1870 (n=8)
Aspartato nos eritrócitos ($\mu\text{mol/L}$)**	900 ± 759 (n=8)	3462 ± 1131 (n=8)
Glutamina nos eritrócitos ($\mu\text{mol/L}$)**	660 ± 119 (n=8)	4618 ± 1285 (n=8)
Atividade ATPase total ($\mu\text{mol Pi/h/mg}$ proteína)	0,16	2,04
Atividade Na-K-ATPase ($\mu\text{mol Pi/h/mg}$ proteína)	0,00	1,50

*Médias entre fenótipos diferem a um $P < 0,05$ segundo o teste de Tukey.

** Médias entre fenótipos diferem a um $P < 0,01$ segundo o teste de Tukey.

Adaptado de Yamato et al. (1999)

Entretanto, em estudo de Fujise et al. (1997b), foi observado que alguns cães, mesmo no grupo HK, apresentam baixa atividade de transportadores de Na^+ dependentes de glutamato. Estudando 81 cães da raça Shiba de uma mesma família, os autores observaram que 42 apresentavam o fenótipo HK. Destes 42, 10 possuíam baixa concentração de GSH nos eritrócitos (Tabela 12). Os autores sugerem que esta característica seja fruto de uma menor atividade destes transportadores e não devido a uma diferença no tipo de transporte de Na^+ e que os resultados indicam que há dois ou mais genes envolvidos na expressão das características relacionadas à concentração de potássio e de GSH nos eritrócitos. Os mecanismos pelos quais isto ocorre permanecem inexplicados.

Tabela 12. Incidência do fenótipo HK/LG e HK/HG em cães japoneses da raça Shiba.

Fenótipo	Machos	Fêmeas	Total
LK	10 (33)	29 (57)	39 (48)
HK/LG	15 (50)	17 (33)	32 (40)
HK/HG	5 (17)	5 (10)	10 (12)

HG = alta concentração de GSH nos eritrócitos

LK = baixa concentração de GSH nos eritrócitos

Percentagens entre parênteses

Adaptado de Fujise et al. (1997b)

Manifestações clínicas do fenótipo HK

Geralmente os cães HK não apresentam qualquer manifestação clínica, e essa característica quase sempre é percebida após algum teste em foi detectada hipercalemia, neste caso, pseudohipercalemia. Porém, há uma grande suscetibilidade a anemia hemolítica por corpúsculo de Heinz induzida pela cebola (*Allium cepa*) (Yamato et al., 1999). Esta anemia deve-se a alta concentração de GSH no eritrócito, o que acelera a oxidação produzida pelo sódio n-propil dissulfito e seus derivados encontrados na cebola causando a transformação da hemoglobina em metemoglobina (Fighera et al., 2002). Por isso deve-se ter especial atenção com a alimentação de cães de raças asiáticas que podem apresentar o fenótipo HK, especialmente com indivíduos que são alimentados com restos da alimentação humana. Harvey (1989) também relata que eritrócitos com alta concentração de potássio também tem uma maior fragilidade osmótica.

Também é sabido que o parasito *Babesia gibsoni*, que causa anemia hemolítica, multiplica-se melhor em reticulócitos do que em eritrócitos de cães. Yamasaki et al. (2005) observou que, o protozoário também se multiplica bem em eritrócitos de cães portadores do fenótipo HK, pois estes possuem várias características dos reticulócitos imaturos (altas concentrações de GSH e aminoácidos livres). Os autores relatam que esta característica deve-se a maior atividade da bomba Na-K-ATPase nessas células, fato comprovado através de análises de ligações de ouabaína. No entanto, como existem cães com fenótipo HK mas com baixa atividade da bomba de sódio dependente de glutamato e, conseqüentemente baixa concentração de aminoácidos livres, o mais provável é que o determinante para a maior proliferação da *Babesia* seja a disponibilidade de aminoácidos. Mas para comprovar esta hipótese, mais estudos devem ser realizados.

Conclusão

O potássio desempenha papel de destaque na geração de impulsos elétricos que serão carreados pelo sistema nervoso e no equilíbrio osmótico e por isso deve sempre estar em níveis adequados para desempenhar estas funções com perfeição. Algumas raças de cães possuem uma grande atividade de Na-K-ATPase mesmo depois da maturação dos reticulócitos em eritrócitos, possuindo uma maior concentração de potássio intracelular do que o observado na maioria dos cães. Os mecanismos pelos quais há a manutenção de algumas características de células imaturas deve ser melhor investigado, bem como a relação entre o fenótipo HK com o HG (alta concentração de GSH). Devido a estas peculiaridades, deve-se ter especial atenção nas análises sanguíneas das raças caninas possivelmente afetadas para não resultar em casos de falsas hipercalemias. Também deve-se ter atenção especial com a alimentação destes cães.

Também são necessários mais estudos a fim de desvendar se o fenótipo HK também está presente no Grande Cão Japonês (antigo Akita Americano), pois todos os trabalhos realizados foram apenas com Akitas de linhagem japonesa.

Referências bibliográficas

- BATTISON, A. Apparent pseudohyperkalemia in a chinese Shar Pei dog. *Veterinary Clinical Pathology*, v. 36, n.1, p.89-93, 2007.
- CARLSON, G.P. Fluid, electrolyte and acid-base balance. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 4 ed. San Diego: Academic Press USA, 1989. p.543-575.
- DEGEN, M. Pseudohyperkalemia in Akitas. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v.190, n.5, p.541-543, 1987.
- FIGHERA, R. A.; SOUZA, T. M.; LANGOHR, I.; BARROS, C. S. L. Intoxicação experimental por cebola, *Allium cepa* (Liliaceae), em gatos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.22, n.2, p.79-84, 2002.
- FREEDMAN, J.C. Membrane Transport in Red Blood Cells. In: SPERELAKIS, N. *Cell Physiology Sourcebook: A Molecular Approach*, 3 ed. Washington: Academic Press, 2001. Cap. 23, p.377-392.
- FUJISE, H.; HAMADA, Y.; MORI, M. et al. Na-dependent glutamate transport in high K and high glutathione (HK/HG) and high K and low glutathione (HK/LG) dog red blood cells. *Biochimica et Biophysica Acta*, v.239, p.22-26, 1995.
- FUJISE, H.; HIGA, K.; NAKAYAMA, T. Incidence of dogs possessing red blood cells with high K in Japan and East Asia. *Journal of Veterinary Medical Science*, v.59, n.6, p. 495-497, 1997a.
- FUJISE, H.; HISHIYAMA, N.; OCHIAI, H. Hereditary of red blood cells with high K and low glutathion (HK/LG) and high K and high glutathion (HK/HG) in a family of japanese shiba dogs. *Exp. Anim.*, v.46, n.1, p.41-46, 1997b.
- GATTO, C.; MILANICK, M. Red blood cell Na pump: Insights from species differences. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*. Submetido em 06 de Janeiro de 2009.
- GONZÁLEZ, F.H.D; SILVA, S.C. *Introdução à bioquímica clínica veterinária*. 2 ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2006. 358 p.
- HARPER, H.A. *Manual de química fisiológica*. 7.ed. São Paulo: Atheneu, 1994.
- HARVEY, J. W. Erythrocyte metabolism. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 4 ed. San Diego: Academic Press USA, 1989. Cap.8, p.185-234.

- LINDEN, R. Sinalização neuronal. In: AIRES, M.M. Fisiologia. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. Cap. 13, p.213-234.
- MAEDE, Y.; INABA, M.; TANIGUCHI, N. Increase of Na-K-ATPase activity, glutamate, and aspartate uptake in dog erythrocytes associated with hereditary high accumulation of GSH, glutamate, glutamine, and aspartate. *Blood*, v.61, n.3, p.493-499, 1983.
- MAEDE, Y.; INABA, M. (Na,K)-ATPase and ouabain binding in reticulocytes from dogs with high K and low K erythrocytes and their changes during maturation. *The Journal of Biological Chemistry*, v.260, n.6, p.3337-3343, 1985.
- MOTTA, V.T. Bioquímica clínica: princípios e interpretações. 3 ed. Porto Alegre: Editora Médica Missau, 2000. 388 p. Cap. 12: Eletrólitos e água.
- PARKER, J.C. Dog red blood cells – adjustment of density *in vivo*. *The Journal of General Physiology*, v.61, p.146-157, 1973.
- PERAZELLA, M.A.; MAHNENSMITH, R.L. Hyperkalemia in the elderly. *J. Gen. Intern. Med.*, v.12, p.646-656, 1997.
- YAMASAKI, M.; TAKADA, A.; YAMATO, O. et al. Inhibition of Na,K-ATPase activity reduces *Babesia gibsoni* infection of canine erythrocytes with inherited high K, low Na concentrations. *Journal of Parasitology*, v.91, n.6, p.1287-1292, 2005.
- YAMATO, O.; LEE, K.; CHANG, H. et al. Relation between erythrocyte reduced glutathione and glutamate concentrations in Korean Jindo dogs with erythrocytes possessing hereditary high activity of Na-KATPase and a high concentration of potassium. *Journal of Veterinary Medical Science*, v.61, n.10, p.1179-1182, 1999.