



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS VETERINÁRIAS



Anais do II Simpósio de
Patologia Clínica
Veterinária
da Região Sul do Brasil

EDITORES:

Félix H. D. González
Andréa Pires dos Santos

Porto Alegre – RS – 2005

EDITORES

FÉLIX H. DIAZ GONZÁLEZ, MV, MSc, Dr
Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias (LACVET)
Faculdade de Veterinária – Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Av. Bento Gonçalves 9090. Porto Alegre - RS 91.540-000 Brasil
felixgon@orion.ufrgs.br

ANDREA PIRES DOS SANTOS, MV, MSc
Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias (LACVET)
Faculdade de Veterinária – Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Av. Bento Gonçalves 9090. Porto Alegre - RS 91.540-000 Brasil
deavet@gmail.com

AUTORES CONTRIBUINTES

CHARLES E, WIEDMEYER, DVM, PhD
Department of Veterinary Pathobiology – College of Veterinary Medicine
University of Missouri – Columbia - USA
wiedmeyerc@missouri.edu

ALEXANDER WELKER BIONDO, DVM, MSc, PhD
Departamento de Medicina Veterinária – Setor de Ciências Agrárias
Universidade Federal do Paraná
Curitiba – Paraná - Brasil
abiondo@cvm.uuic.edu

ROBERTA GRAÇA, MV, MSc
Patologista Clínica certificada pela Associação Americana de Patologia Clínica
graca@uuic.edu

ANDREA PIRES DOS SANTOS, MV, MSc
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias – Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre - Rio Grande do Sul - Brasil
deavet@gmail.com

LUCIANA DE ALMEIDA LACERDA, MV
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias - Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre – Rio Grande do Sul - Brasil
llacerda@portoweb.com.br

ÁNGELA PATRÍCIA MEDEIROS VEIGA, MV. MSc
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias – Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre - Rio Grande do Sul - Brasil
angela_veiga@ufrgs.br

CIP – CATALOGAÇÃO INTERNACIONAL DA PUBLICAÇÃO

S612 Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil (2.:2005: Porto Alegre, RS)

Anais do 2º Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil, realizada em Porto Alegre, no ano de 2005 / editado por Félix H.D. Gonzalez, Andréa Pires dos Santos - Porto Alegre: UFRGS, 2005

91 p.; il.

1. Simpósio de Patologia Clínica Veterinária 2. Patologia Clínica Veterinária : hematologia 3. Doenças metabólicas 4. Sistema urinário
I. Diaz Gonzalez, F.H. II. Santos, Andréa Pires dos III. Título

CDD 619.6026
CDU 619:636.2

Catálogo na fonte preparada pela Biblioteca Setorial da Faculdade de Veterinária da UFRGS. Copyright 2005 by Félix H.D. González & Andrea Pires dos Santos. Todos os direitos reservados. Não é permitida a reprodução total ou parcial desta publicação sem a autorização escrita e prévia dos editores.

SUMÁRIO

<i>PREFÁCIO</i> _____	5
<i>HEPATIC INJURY AND FUNCTION</i> _____	6
<i>URINARY SYSTEM</i> _____	16
<i>INTERPRETAÇÃO DO LEUCOGRAMA</i> _____	29
<i>DOENÇAS MIELOPROLIFERATIVAS</i> _____	36
<i>ANEMIA E POLICITEMIA(Resumo)</i> _____	43
<i>AVALIAÇÃO DA HEMOSTASIA E DISTÚRBIOS DA COAGULAÇÃO</i> _____	46
<i>TRANSFUSÃO SANGÜÍNEA EM VETERINÁRIA: DESAFIOS A VENCER</i> ____	62
<i>OBESIDADE E DIABETES MELLITUS EM PEQUENOS ANIMAIS</i> _____	82

PREFÁCIO

Esta segunda edição do Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil, realizada na Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em março de 2003, expressa um esforço do Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias desta instituição (LACVET/UFRGS) por manter a atualização e o intercâmbio dos patologistas clínicos da nossa região. Nesta ocasião, participaram o Dr. Charles E. Wiedmeyer, professor de Patologia Clínica Veterinária da Universidade de Missouri (EUA), quem discursou sobre as formas de avaliar o funcionamento hepático e renal, o professor Alexander Welker Biondo, da Universidade Federal do Paraná, quem esteve presente com o tema de doenças mieloproliferativas e a interpretação de casos clínicos utilizando o leucograma, a Dra. Roberta Graça, patologista clínica certificada pela Associação Americana de Patologia Clínica, quem abordou a patogenia e a avaliação clínico-laboratorial de anemias e policitemias, a Dra. Andrea dos Santos, com avaliação da hemostasia e distúrbios da coagulação, a Dra. Angela Veiga com o tema da obesidade em cães e gatos e sua relação com o desenvolvimento de diabetes mellitus e a Dra. Luciana de Almeida Lacerda com o tema de transfusão sanguínea em cães. Estas três últimas palestrantes pertencentes ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da UFRGS.

Gostaria de expressar aqui meus agradecimentos a todos palestrantes por seu valioso apoio. Especial reconhecimento ao professor Marcelo Cecim, da Universidade Federal de Santa Maria por seu apoio na tradução das palestras do Dr. Wiedmeyer. Este evento não teria sido possível sem árdua dedicação da Dra. Andrea dos Santos, que além de ser palestrante, foi organizadora e editora. Nosso reconhecimento pelo patrocínio as seguintes firmas e entidades que nos apoiaram: Laboratório Veterinário de Análises Clínicas (Petlab), Nutron Alimentos, Veterinária do Sul (Vetsul), Roche Diagnóstica Brasil, Ritter Hotéis e Conselho Regional de Medicina Veterinária do Rio Grande do Sul.

Félix H. D. González
Organizador
Porto Alegre, março de 2005

HEPATIC INJURY AND FUNCTION*

Charles E. Wiedmeyer

DVM, PhD, DACVP
Department of Veterinary Pathobiology
College of Veterinary Medicine
University of Missouri – Columbia, USA
wiedmeyerc@missouri.edu

- I Hepatic abnormalities detected by laboratory tests
 - 1) Hepatocellular leakage or necrosis
 - 2) Hepatic insufficiency
 - 3) Cholestasis
 - 4) Alterations in portal blood flow

- II Hepatic Enzymes
 - 1) Hepatic Leakage Enzymes
 - a. Alanine aminotransferase (ALT) – also known as SGPT
 - i. Cytosolic enzyme
 - ii. Plasma half-life in dogs estimated to be 60 hours, probably shorter in cats.
 - iii. Liver specific in dogs and cats, of no use in other species.
 - iv. Increases with reversible or irreversible hepatic damage.
 - 1. Magnitude of increase roughly parallels amount of hepatic mass affected.
 - 2. Plasma activity rises within 12 hours and peaks 1-2 days following toxic insult.
 - 3. Correlation between plasma activity and hepatic insufficiency is poor.
 - v. Severe muscle damage may increase plasma activity.
 - vi. Mildly increased with steroid administration
 - b. Aspartate aminotransferase (AST) – also known as SGOT
 - i. Two isoenzymes: cytosolic and mitochondrial.
 - ii. Plasma half-life in dogs approximately 12 hours, shorter in cats, 7-8 days in horses.
 - iii. Occurs in most cells but used mostly for liver and muscle damage due to high activity in these cells.

* Wiedmeyer, C.E. (2005). Hepatic injury and function. In: González, F.H.D., Santos, A.P. (eds.): *Anais do II Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil*. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. pp.6-15.

- iv. In cattle and horses
 - 1. Marker of hepatocellular and muscle damage and *in vitro* hemolysis.
- v. In dogs and cats
 - 1. Can be used as a measure of hepatocellular damage but not as tissue specific as ALT
- c. Lactate dehydrogenase (LDH)
 - i. Cytoplasmic enzyme with five isoenzymes.
 - ii. Found in liver, muscle, heart and kidney
 - iii. High content in erythrocytes
 - iv. Half live – less than 6 hours in dogs
 - v. Marker of hepatocyte damage, muscle damage or hemolysis
 - vi. By itself can be used as a screening test for hepatic or muscle damage.
 - vii. Best used with additional enzymes (i.e. ALP, CK, AST)
- d. Sorbital dehydrogenase (SDH)
 - i. Cytoplasmic enzyme of hepatocyte
 - ii. Short plasma half life – therefore, low sensitivity in chronic hepatic disease
 - iii. Increases in serum following hepatic necrosis
 - iv. Interpretation similar in all species as described for ALT in dogs
 - v. Hepatic enzyme of choice for horses and cows
 - vi. Unstable enzyme, must be assayed for rapidly
- e. Glutamate dehydrogenase (GDH)
 - i. Cytosolic enzyme
 - ii. Liver specific for birds
- 2) Inducible Hepatic enzymes
 - a. Alkaline Phosphatase (ALP)
 - i. Catalyzes the hydrolysis of monophosphates at an alkaline pH
 - ii. *In vivo* substrate is unknown, therefore function unknown
 - iii. All membrane bound, inducible enzyme
 - iv. Isoenzymes
 - 1. Liver, bone and kidney – product of same gene but glycosylated differently; isoforms
 - 2. Intestinal and corticosteroid-induced (unique to dog)

v. Half-life

1. Intestine and kidney ALP – 2-6 minutes, therefore never causes serum increases (except IALP in rats)
2. Liver, bone and corticosteroid-induced – 3 days in dogs
3. Liver and bone in cats – approximately 6 hours

vi. Serum Increases

1. Bone ALP
 - a. Young growing animals, very high in foals in first three weeks of age.
 - b. Rarely exceeds 2-3X normal in adult animals with increased osteoblastic activity.
 - c. Increases in total ALP and bone ALP in dogs with osteosarcoma and associated with shorter survival times.
 - d. Cats with hyperthyroidism may have mild increases
4. Liver ALP
 - a. Most commonly increased isoenzyme in serum of dogs
 - b. Impaired bile flow/Cholestasis – bile acids induce increased activity of ALP
 - c. Detergent action of bile solubilizes enzyme from membrane
 - d. Induced by corticosteroids, anticonvulsive drugs
 - e. Little or no increase with hepatic necrosis
5. Corticosteroid-induced ALP
 - a. Unique isoenzyme of dogs (and Gray Wolf)
 - b. Made in the liver, induced by endogenous or exogenous glucocorticoids
 - c. Screening test for hyperadrenocorticism
 - d. May constitute 100% of serum ALP activity
- b. Gamma glutamyl transferase (GGT)
 - i. Highest concentrations in kidney, some in pancreas, serum GGT from liver in health and disease
 - ii. Half life – approximately 3 days in horses
 - iii. Some species, high GGT activity in mammary gland
 1. Colostrum of cows and dogs high in GGT activity
 2. May indicate successive passive transfer
 3. Mare colostrum contains little GGT

- iv. Associated with membrane of biliary epithelial cells
- v. Increased serum activity with cholestasis or biliary hyperplasia – mechanism unknown
- vi. Drug induction – corticosteroids, Phenobarbital, etc.
- vii. GGT in urine
 1. Damage to renal epithelial cells causes increased GGT activity in urine without increase in serum GGT
 2. Dependent on water excretion by kidneys
 3. Not very useful for diagnosis of kidney disease

III. Tests of Hepatic Function

1) Bilirubin

- i. Derived from turnover of heme from senescent erythrocytes and heme containing proteins (myoglobin, cytochromes, peroxidase)
- ii. Three fractions in serum: Conjugated (C-bil), Unconjugated (U-bil) and Delta (delta-bil)
- iii. Pathway of Formation
 1. Hemoglobin broken down in macrophages to heme, iron and globin
 2. Heme converted to biliverdin by heme oxygenase
 3. Biliverdin converted to unconjugated bilirubin by biliverdin reductase
 4. U-bil leaves macrophage and binds to albumin in plasma
 5. Transported to liver and binds to receptors on hepatocyte
 6. Dissociated from albumin and taken into hepatocyte
 7. Conjugated with glucuronic acid by glucuronyl transferase
 8. Secreted into bile canaliculi (rate limiting step)
 9. Delivered to intestine through bile.
 10. Converted to urobilinogen by intestinal bacteria.

iv. Causes of increased Bilirubin

1. Hemolysis
 - a. Animals with hemolytic anemia develop icterus due to rate of U-bil formation exceeding hepatic uptake and/or secretion
 - b. Total and U-bil usually increased

- c. Other findings: regenerative anemia, hemoglobinuria, hemoglobinemia, bilirubinuria.
2. Hepatocellular disease
 - a. Decreased U-bil uptake
 - i. Fasting or anorexic animals – mobilization of fat causes increased free fatty-acids that compete with receptors (especially horses)
 - ii. Horses conjugate U-bil with glucose rather than glucuronic acid therefore, fasting state causes decreased glucose for conjugation
 - b. Decreased functional hepatic mass
 - i. Causes decreased U-bil uptake, conjugation and secretion.
 - ii. Hereditary deficiencies in hepatic uptake: Southdown and Corriedale sheep
 - c. Decreased U-bil conjugation
 - i. Related to decrease in functional mass
 - ii. Hereditary deficiencies in enzymes that catalyze conjugation recognized in lab animals and people.
 3. Extrahepatic obstruction
 - a. Obstructive cholestasis: bile canaliculi or bile ducts
 - b. Increases in C-bil initially but progresses to increased U-bil

v. Bilirubinuria

1. Hemolytic states or impaired hepatobiliary excretion
2. C-bil easily passes through glomerulus
3. Low renal threshold for bilirubin, therefore, bilirubinuria detected before bilirubinemia
4. Dogs with moderately concentrated urine may have bilirubinuria.

2. Bile Acids

- i. Synthesized in liver from cholesterol; conjugated to taurine or glycine for secretion into bile; stored in gall bladder, emptied into intestine under influence of cholecystokinin (CCK); follows enterohepatic circulation

ii. Diagnostic sensitivity for hepatobiliary function

iii. Bile Acids Challenge Test

1. Theory: Tests the uptake capabilities of the liver of a bolus of bile acids

2. Procedure

d. Blood sample taken after 12 hour fast (Preprandial)

e. Fed food containing fat and protein

f. Second sample taken two hours later (Postprandial)

3. Used for dogs and cats only

4. No need for post-prandial sample in horses

iv. Increases in Bile acids

1. Decreased clearance of bile acids from portal blood

a. Pathology of hepatocytes prevents bile acids clearance from portal circulation

b. Shunting of blood prevents bile acids to be cleared

2. Decreased biliary excretion of bile acids

a. Impaired bile flow: hepatic or post-hepatic

b. Obstructive cholestasis

3. Sulfobromophthalein (BSP) excretion test

i. Metabolism

1. Injected dye binds to albumin; transported to liver and taken up by hepatocytes, transported by same proteins as bilirubin and bile acids, conjugated and excreted in bile.

2. Rate of removal dependent upon:

a. Volume distribution of BSP

b. Albumin concentration

c. Hepatic blood flow

d. Availability of carrier proteins

e. Functional capacity of liver

f. Conjugation and secretion

g. Patency of biliary system

ii. Procedure

1. Amount of BSP retention determined 30 minutes following single IV injection of 5mg BSP/kg body weight - dogs

2. In large animals, clearance reported as half-time of disappearance from blood.

iii. Interpretation

1. BSP retention or reduced clearance with 55% loss in functional mass.

4. Ammonium

i. Physiologic process

1. Most NH_4^+ produced by digestion of dietary proteins or metabolism of bacteria.
2. Enters liver via portal vein or hepatic artery and enters hepatocytes for use in synthesis of urea, proteins and amino acids
3. Urea is excreted through the kidneys or intestine.

ii. Hyperammonemia

1. Decreased clearance of NH_4^+
 - a. Reduction of hepatocellular mass
 - b. Portosystemic shunts
 - c. Congenital deficiencies involving urea cycle
2. Increased NH_4^+ production
 - a. Postprandial
 - b. Urea toxicosis in cattle
 - c. Strenuous exercise

iii. Ammonium tolerance test

1. Administration of NH_4Cl presents a challenge dose of NH_4^+ to the liver via portal veins.
2. Decreased functional mass or portosystemic shunt will allow more NH_4^+ to escape enterohepatic circulation and cause increased plasma NH_4^+
3. Oral or rectal tolerance tests

5. Other abnormalities with Hepatic dysfunction

i. Glucose

1. With reduced function hepatic mass, hypoglycemia may occur
2. Fasting hypoglycemia due to reduced glycogen stores and insulin clearance from liver
3. Postprandial hyperglycemia may be prolonged
4. Approximately >80% of liver is non-functional

ii. Albumin

1. Usually normal with acute liver disease due to 7-10 day halflife

2. Chronic liver disease leads to decreased functional mass and decreased synthesis of albumin
 3. Approximately 80% of functional mass lost
- iii. Prothrombin
1. Due to short half-lives, Factors II, VII, IX and X decrease with decreased functional mass.
 2. Coagulation tests become abnormal with factor is reduced <30% of normal
 3. Usually Vitamin K dependent factors
- iv. Cholesterol
1. Synthesized in liver
 2. Reduced synthesis with decreased functional mass
 3. Leads to hypocholesterolemia.

IV. Hepatic Abnormalities

1. Hepatocellular Injury
 - i. Altered cell membranes
 1. Leakage occurs with sublethal injury and necrosis
 2. Enzymes, ALT, SDH and AST escape more readily
 3. Generally, the magnitude of increase in serum enzyme activity correlates with number of affected hepatocytes
 - ii. Enzyme induction
 1. Most inducible enzymes are membrane bound.
 2. Usual enzymes: ALP and GGT
 3. Increased activity usually occurs several days after action of inducing agent, days to weeks for peak in activity
2. Decreased functional mass
 - i. Most hepatic functions do not become altered until more than 50% of mass is affected
 - ii. May result from diffuse hepatocellular injury, chronic progressive liver disease, hepatic atrophy
 - iii. Functional measurements
 1. Albumin
 2. Globulins
 3. Clotting factors
 4. Bilirubin
 5. Bile acids

6. BSP excretion test
 7. Ammonia
 8. Blood Urea
 9. Glucose
 10. Cholesterol
3. Cholestasis
 - i. Intra or extrahepatic causes are usually associated with some hepatocellular injury
 - ii. Detected by bile acids, bilirubin (serum and urine), BSP, ALP, GGT
 - iii. Hereditary causes
 4. Altered blood flow
 - i. Decreased arterial blood flow or chronic congestion causes centrilobular hypoxia
 - ii. Hypoxia is characterized by increased membrane permeability, cholestasis is minimal
 - iii. Decreased in portal vein flow: portosystemic shunt
 - iv. Intrahepatic shunts: secondary to hepatic fibrosis, portal hypertension
 - v. Extrahepatic shunts: congenital
 - vi. Decreased availability of hepatotrophic factors in portal blood leads to atrophy and decreased hepatic mass
 5. Altered Kupffer cell activity
 - i. Diminished cell mass allows enteric antigens delivery to systemic circulation rather than removal.
 - ii. Excessive antigenic stimulation occurs and hyperglobulinemia (polyclonal) may result

IV. Species Differences

1. Cattle
 - i. Bilirubin – not a sensitive indicator of hepatic pathology
 - ii. Bilirubinuria – low renal threshold
 - iii. Enzymes: AST, SD and GGT best
2. Horses
 - i. Bilirubin – Anorexia causes increases up to 10 mg/dl
 - ii. Bilirubinuria – seldom observed, must have severe cholestasis
 - iii. Bile acids – sensitive indicator of cholestasis

- iv. Enzymes: SD (excellent for acute injury), ALP (low sensitivity), GGT (cholestatic enzyme of choice), ALT (liver and muscle)
3. Dogs
- i. Bilirubin – biliary obstruction, not steroids
 - ii. Bilirubinuria – sensitive test for cholestasis
 - iii. Bile acids – best for functional test
 - iv. Blood ammonia – good for Portosystemic shunt, bile acids better
 - v. Enzymes: ALT, ALP, GGT
4. Cats
- i. Bilirubin – implies cholestasis or hepatic lipidosis
 - ii. Bilirubinuria – not normally observed
 - iii. Bile acids – same sensitivity as in dog
 - iv. Enzymes: ALP (short half life), GGT, ALT

URINARY SYSTEM*

Charles E. Wiedmeyer

DVM, PhD, DACVP
Department of Veterinary Pathobiology
College of Veterinary Medicine
University of Missouri – Columbia, USA
wiedmeyerc@missouri.edu

I. Processes of Renal Function

- a. Glomerular filtration - Dependent on molecular size and charge of molecule.
- b. Tubular absorption - Passive or active process
- c. Tubular secretion - Active process

II. Glomerular Filtration Rate (GFR) – rate at which fluid moves from plasma to the glomerular filtrate. Measured by determining rate of substance cleared from plasma.

- d. Ideal solute for measuring GFR is not protein bound, passes freely through the glomerular filtration barrier, is not absorbed or secreted in the tubules. (Examples: Inulin, iothexol, mannitol)
- e. Dependent on renal perfusion.
 - i. Variables affecting renal perfusion
 1. blood volume
 2. cardiac output
 3. functional capacity of glomeruli
 4. plasma oncotic pressure
 5. intracapsular hydrostatic pressure
- f. Blood Urea Nitrogen (BUN)
 - i. Majority of plasma urea is synthesized from protein catabolism in the hepatic urea cycle.
 - ii. Kidney is the route of most urea excretion (GIT minor route)
 1. In ruminants, urea excreted into rumen, degraded to ammonia and used for amino acid synthesis
 2. Urea excretion in ruminants governed by nitrogen intake. BUN can be normal in ruminants with severe renal disease due to excretion in GIT.
 - iii. Passively diffuses with water from tubular lumen back into blood
 1. Related to rate of urine flow through tubules

* Wiedmeyer, C.E. (2005). Urinary system. In: González, F.H.D., Santos, A.P. (eds.): *Anais do II Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil*. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. pp.16-28.

2. High urine flow rate = little reabsorption
Low urine flow rate = increased reabsorption
3. ADH helps reabsorption in collecting ducts and maintains interstitial gradient
- iv. Decreased Glomerular filtration causes increased BUN
- v. Increased BUN
 1. Azotemia – increased nonprotein nitrogenous compounds in blood
 - a. Prerenal Azotemia
 - i. Decreased renal perfusion secondary to dehydration, shock or cardiovascular disease
 - ii. Decreased GFR and decreased urine flow through tubules
 - iii. Increased protein catabolism, small bowel hemorrhage, necrosis, starvation, prolonged exercise – mildly increases BUN via increased hepatic synthesis of urea
 - iv. Urine Specific Gravity is usually high.
 - b. Renal Azotemia
 - i. Occurs when approximately 65-75% of nephrons are non-functional. Causes decreased GFR and subsequent increase in BUN.
 - ii. Processes responsible for prerenal azotemia may be present as well.
 - iii. BUN increase usually modest in horses with renal disease because of intestinal excretion, same in ruminants
 - iv. Specific Gravity usually in the isothermia range
 - g. Postrenal Azotemia
 - i. Caused by urinary tract blockage or urine leakage
 - ii. Obstruction causes release of vasoconstrictive substances that constrict glomerular arterioles, decreases renal perfusion, decreases GFR

- iii. Leakage of urine into peritoneal cavity causes BUN to passively reabsorb into plasma, causes azotemia (ruptured bladder)
 - iv. GFR not reduced initially
 - v. Renal and prerenal processes can be present
 - vi. Specific gravity is variable
 - vi. Decreased BUN
 - 1. May be seen with hepatic insufficiency, low protein diets or administration of anabolic steroids.
 - 2. Young animals may have low BUN due to increased fluid intake, increased urine output or high anabolic state of rapid growth.
- d. Creatinine
 - i. Originates endogenously from nonenzymatic conversion of creatine in muscle
 - ii. Creatine pool is influenced by muscle mass, can be altered by muscle disease, generalized wasting or conditioning.
 - iii. Passes freely in glomerular filtration and is not reabsorbed by tubules. (small amount secreted in tubule of male dogs)
 - iv. More accurate indicator of GFR than BUN due to lack of tubular absorption.
 - v. Small amount excreted in GIT.
 - vi. Increases in serum Creatinine
 - 1. Not significantly influenced by diet or catabolism factors.
 - 2. Decreased renal perfusion affects Creat similar to BUN.
 - 3. More sensitive indicator of renal disease in cattle and horse due to minimal GI excretion.
 - 4. Not affected by decreased urine flow or diffusion in compartments.
 - 5. Noncreatinine chromogens may result in false increases in values (Ex. Ketones)
 - v. Decreased creatinine
 - 1. Not clinically relevant
- e. BUN and Creatinine
 - i. Plasma concentrations usually parallel each other and provide the same information.

- ii. In theory, Creatinine is better indicator of decreased GFR because of constant amount delivered to kidney and lack of tubular reabsorption.
- iii. Differences in BUN and Creatinine
 1. Hypovolemia – caused greater tubular absorption of BUN due to decreased urine flow.
 2. Intestinal hemorrhage or high protein diet may cause increased in BUN over Creatinine.

III. Tubular Function

- a. Proximal tubule
 - i. Passively reabsorbs 60-65% of the water in the glomerular filtrate (independent of body needs)
 - ii. Solute concentration does not change but volume decreases
- b. Descending loop of Henle
 - i. Osmolality of tubular fluid increases due to more passive reabsorption of water and secretion of Cl^- , Na^+ , and urea into lumen.
- c. Ascending loop of Henle
 - i. Relatively impermeable to water and actively pumps Cl^- and Na^+ from tubular fluid to interstitial space.
 - ii. Maintains hypertonic interstitial fluid in the medullary region so that passive reabsorption of water can occur in other loops
 - iii. Associated with major structures that maintain hyperosmolar medullary interstitial fluid
- d. Collecting tubules
 - i. Concentrating segment of the nephron
 - ii. Controlled by ADH for permeability of the epithelium to water.
 - iii. Water is reabsorbed in the presence of ADH if there is an osmotic gradient between the tubular fluid and the interstitial space.
- e. Concentrating ability
 - i. ADH must be present. Stimulated by hyperosmolality, decreased cardiovascular pressures with hypovolemia or increased angiotensin concentrations.
 - ii. Must have a greater osmolality in the interstitial fluid than in the fluid in the tubule.
 - iii. Definitions – Solute concentration in urine.

1. Hyposthenuria (<1.008) – state in which excreted urine has an osmolality less than isothermia, dilute urine.
2. Isothenuria (1.008-1.012) – state in which urine osmolality is the same as plasma osmolality.
3. Hypersthenuria (>1.030) – excretion of highly concentrated urine, rarely used.

f. Diluting ability

- i. Active transport of Cl^- and Na^+ must occur from the tubular fluid to interstitial fluid in the ascending loop of Henle.
- ii. Very little of no water is removed from the tubular fluid by the distal nephron.
- iii. Dilution of urine to hyposthenuria range indicates renal functional capabilities

IV. Renal Disease

a. Chronic Renal Failure

- i. No universally accepted definitions or criteria for staging impaired renal function.
- ii. General Concept: 2/3 loss of functional renal mass to lose concentrating abilities, 3/4 loss of functional mass to become azotemic.
- iii. Loss of concentrating abilities
 1. Solute diuresis – more solute than usual presented to remaining functional nephrons.
 2. Decreased Cl^- and Na^+ transport, damaged medullary blood flow, damage to epithelial cells in distal nephron less responsive to ADH
- ii. Evidence of Chronic Renal disease
 1. Azotemia (both BUN and Creat increased)
 2. Dilute urine - isothermia
 3. Possibly anemia or hypocalcemia

b. Acute Renal Failure

- i. Usually oliguria or anuria
- ii. Abrupt and severe decrease in GFR, no compensatory hypertrophy of healthy nephrons.
- iii. Reversible or irreversible

- iv. Usually isothermuremic but may be variable depending on stage of disease.
- iii. Urine is not hyposthenuric which would imply retained diluting ability.
- c. Other Abnormalities
 - i. Serum Phosphorus (PO_4)
 - 1. Dogs and cats usually hyperphosphatemic due to decreased renal clearance.
 - 2. Horses – low to normal PO_4 due to extrarenal excretion
 - 3. Cattle – Kidney minor route for PO_4 excretion, usually rumen or saliva
 - ii. Serum Calcium (Ca^{++})
 - 1. Dogs, cats and cattle usually hypocalcemic with chronic renal failure due to decreased formation of 1, 25 DHCC
 - 2. Horses usually with hypercalcemia with renal disease due to decreased renal clearance of Ca^{++}
 - iii. Serum Potassium (K^+)
 - 1. Acute renal may cause hyperkalemia and acidemia due to impaired excretion of both cations. Usually observed with anuric or oliguric renal failure.
 - 2. Cattle tend to have hypokalemia due to alkalosis, decreased dietary intake or increased excretion through saliva.
 - iv. Serum Amylase or Lipase
 - 1. Serum amylase and lipase may be moderately increased with decreased GFR due to the kidney's role in inactivation of these enzymes. Their half-lives are prolonged.

V. Urinalysis

- a. Factors that determine composition of urine
 - i. Quantity and composition of plasma presented to the kidney
 - ii. Renal functions: filtration, secretion, absorption
 - iii. Materials added to filtrate from kidneys, ureters, bladder, etc.
 - iv. How sample was taken.
- b. Physical characteristics
 - i. Urine Color
 - 1. Normally yellow in all species

2. Pale yellow to clear usually indicates dilute urine while dark yellow usually indicates concentrated urine.
 3. Red urine: erythrocytes, hemoglobin, myoglobin
 4. Red-brown urine: erythrocytes, hemoglobin, myoglobin, methemoglobin
 5. Brown to black urine: methemoglobin from hemoglobin or myoglobin
 6. Yellow-Orange: bilirubin
 7. Yellow/green or yellow/brown: bilirubin, biliverdin
- ii. Urine clarity
1. Usually clear to slightly turbid
 2. Horse urine is frequently cloudy due to presence of mucoproteins or calcium carbonate crystals.
 3. Cloudiness may indicate presence of cells, crystals, bacteria or casts.
- c. Solute Concentration
- i. Specific Gravity (SG) – measurement is dependent on particle size, weight and number.
 1. Ratio of solution's weight to weight of an equal volume of water. Rough estimate of renal function.
 2. Measured by a refractometer
 3. Considered a valid reflection of the osmolality.
 4. High glucose or protein in urine can cause a false increase in SG but minimal.
 - i. SG increases 0.001 with 0.27 g/dl of glucose or 0.4 g/dl of protein.
 5. In dogs, adequately concentrated urine should have SG of 1.030 or greater, 1.035 in cats.
 6. SG in normal dogs can range from 1.001-1.050 and 1.001-1.080 in cats.
 - ii. Osmolality – dependent on the number of particles in solution.
 1. Based on freezing point osmometry.
 - i. Freezing point inversely proportional to solute concentration.
 2. Urine osmolality usually limited to cases where accurate assessment of renal concentrating or diluting abilities are critical.

d. Chemical Components

i. pH

1. Carnivores usually have acidic urine, herbivores have alkaline urine.
2. Abnormal urine color may interfere with visual interpretation of the color change on the reagent strip.
3. Aciduria
 - i. Respiratory or metabolic acidosis
 - ii. Hypochloremic metabolic alkalosis
 - iii. Hypokalemia
 - iv. Furosemide treatment
 - v. Proximal renal tubular acidosis
4. Alkalinuria
 - i. Delayed completion of urinalysis
 - ii. Urease-containing bacteria in urine
 - iii. Respiratory alkalosis

ii. Protein

1. Small proteins pass through the glomerular filtrate, in normal animals, reabsorbed by the proximal tubules.
2. Urine from healthy dogs may have detectable protein
3. Concentrated urine often contains protein.
4. Protein secreted by the tubules – Tamm-Horsfall is a mucoprotein.
5. Methods of detecting Protein in Urine
 - i. Reagent Strips
 - i. Abnormal color of urine may interfere with proper reading
 - ii. False increases with highly buffered alkaline urine.
 - iii. Detects albumin the best, little immunoglobulins or Bence-Jones
 - ii. SSA Turbidity Method
 - i. Proteins denatured by acid and form precipitate
 - ii. Reacts with albumin better than globulins but will detect Bence Jones proteins
6. Causes of Proteinuria

- i. Prerenal Proteinuria – amount of filtered small proteins exceed the ability of tubules to reabsorb
 - ii. Glomerular proteinuria – damage allows more permeability of large proteins.
 - iii. Tubular Proteinuria – defective tubules allows for proteins to pass without reabsorption
 - iv. Hemorrhagic or inflammatory proteinuria (most common)
- iii. Glucose
 - 1. Freely filtered and passively absorbed by proximal tubules
 - 2. Reabsorption complete when serum concentrations are <180 mg/dl in the dog, <280 mg/dl in the cat and <100mg/dl in the cow.
 - 3. Reagent strip uses glucose oxidase
 - 3. Glucosuria
 - i. Hyperglycemic – transient or persistent increase in glucose filtration – Osmotic diuresis
 - ii. Renal glucosuria (normoglycemic) – defective reabsorption of glucose caused by damaged or abnormal tubules
 - iii. Acquired tubular abnormalities
 - iv. Congenital (Fanconi Syndrome)
- iv. Ketones
 - 1. Ketone bodies
 - i. Acetoacetate, β -hydroxybutyrate, acetone
 - 2. Ketone bodies not found in urine of healthy individuals
 - 3. Enter urine through glomerular filtration and tubular secretion.
 - 4. Reagent strip – Detects only Acetoacetate, a small amount of acetone and not β -hydroxybutyrate
 - 5. Ketouria
 - i. Occurs when there is increased mobilization of lipids due to shift in body energy production.
 - ii. Decreased insulin activity and increased glucagon activity.
 - 6. Ketosis –primarily β -hydroxybutyrate and lesser amounts of acetone and acetoacetate.
- v. Heme (blood or occult blood)
 - 1. Reagent strips

- i. Peroxidase of heme catalyzes reaction
 - ii. Heme can be from hemoglobin or myoglobin
 - iii. Intact RBCs cause a speckled appearance on strip
 - 2. Differentiate between hemoglobin and myoglobin
 - i. Ammonium sulfate precipitation – may be unreliable
 - ii. Usually clinical deductive reasoning
 - 3. Hematuria – RBC's in urine
 - 4. Hemoglobinuria – hemoglobin passes glomerular filtration and is not fully resorbed by tubules.
 - 5. Myoglobinuria – myocyte necrosis and release of myoglobin to be filtered by glomerulus.
 - 6. Hemoglobinuria and myoglobinuria may cause tubular nephrosis
- vi. Bilirubin
 - 1. Excess in urine: hemolytic state or impaired hepatobiliary excretion
 - 2. Easily passes through glomerular filtration barrier
 - 3. Positive urine bilirubin in dogs in concentrated urine
 - 4. Bilirubinuria may be detected before bilirubinemia or icterus
- vii. Urobilinogen
 - 1. Formed from degradation of bilirubin in intestine.
 - 2. Reabsorbed and removed in portal system
 - 3. Urobilinogen not removed from blood excreted in urine.
 - 4. Excess in urine: hemolytic diseases and possibly hepatic or biliary diseases
 - 5. Not considered diagnostically useful.
- viii. Nitrate
 - 1. Gram negative bacteria reduce nitrate to nitrite.
 - 2. False positive with analysis of old urine.
 - 3. Positive reaction: suggestive of Gram neg bacteria infection
 - 4. Not considered diagnostically useful.
- e. Urine Sediment (Method of collection is very important!)
 - i. Leukocytes
 - 1. A few leukocytes may be normal in healthy animal
 - 2. Reported as mean seen at 40X objective
 - 3. Leukocytes deteriorate in urine within a few hours
 - 4. Increased numbers: Pyuria

- i. Urinary tract inflammation
 - ii. Genital tract inflammation
- ii. Erythrocytes
 - 1. Can crenate and be confused with leukocytes
 - 2. May lyse in urine before or after collection
 - 3. If erythrocytes observed, heme reaction should be positive
 - 4. Increased numbers: Hematuria
 - i. Pathologic hemorrhage: vascular damage, platelets, coagulopathies.
 - ii. Iatrogenic hemorrhage
 - iii. Genital tract hemorrhage
- iii. Bacteria
 - 1. Urine formed by kidney is sterile
 - 2. Cocci bacteria may be difficult to differentiate from small particulate matter in urine.
 - 3. If bacteria are clinically significant, pyuria usually present
 - 4. Also consider sample source.
 - 5. Absence of detectable bacteria in sediment does not exclude of urinary infection.
- iv. Casts
 - 1. Formed in renal tubules – matrix of Tamm-Horsfall protein secreted by epithelial cells of tubules.
 - 2. Few casts found in healthy animals: hyaline or granular
 - 3. A shower of casts may occur with physical activity
 - 4. Enumerated as mean at 10X objective
 - 5. Classified by appearance
 - i. Fine and coarse granular – may indicate toxic nephrosis or renal ischemia.
 - ii. Epithelial cell
 - iii. Erythrocyte or leukocyte – may indicate inflammation or hemorrhage at tubules
 - iv. Lipid casts – cats especially
 - v. Hyaline
 - vi. Waxy – usually with chronic renal disease
 - 6. Casts can deteriorate in urine (especially alkaline)
 - 7. Absence does not exclude active renal tubular disease.
- v. Epithelial cells

1. Epithelial cells constantly sloughed from urinary tract
 2. Few expected in healthy animal
 3. Enumerated as mean at 10X objective
 4. Can deteriorate in urine (use fresh)
 5. More transitional cells slough with inflamed or hyperplastic mucosa.
 6. Neoplastic cells can be detected in urine.
 7. Squamous epithelial cells can come from genital tract or distal urinary tract from voided or catheterized samples.
- vi. Crystals
1. Represent precipitation of salts
 2. Different crystals form or dissolve at different pH.
 3. Enumerated as mean at 10X objective
 4. Can form or dissolve in stored urine.
 5. Degree is dependent on pH, concentration of ions and temperature of the urine.
 6. Most crystals found in healthy animals
 7. Presence or absence is not a reliable indicator for the presence of urolithiasis.
- vii. Other Organisms and Items
1. Yeast, other fungus, parasites
 2. Contaminates from fecal material
 3. Lipid droplets (cats usually)
 4. Mucus strands (from genital tract)
 5. Spermatozoa

VI. Other Tests for Renal Function

- a. General principles
 - i. Uses a quantitative urinalysis.
 - ii. Purpose is to quantify amount of a substance that is excreted by kidneys in a defined period of time.
 - iii. Used to analyze excretion of electrolytes and protein
 - iv. Usually compared to excretion of creatinine.
- b. 24-hour Excretion study
 - i. Definitive method for determining urinary excretion of an analyte.

- ii. Not often done in veterinary medicine: time and reference ranges
- c. Protein:Creatinine Ratio
 - i. Creatinine clearance is relatively constant in health.
 - 1. If creatinine clearance is decreased, protein loss is decreased.
 - 2. If protein clearance is increased and creatinine is normal – indicates increased protein clearance.
 - ii. Derived from dividing urine protein concentration by urine creatinine concentration.
 - iii. Reference ranges for dogs
 - 1. Healthy dogs Prot:Creat = <0.5
 - 2. Borderline Prot:Creat = 0.5-1.0
 - 3. Glomerular proteinuria Prot:Creat = >1.0
 - iii. Should be increased with any animal with proteinuria
 - iv. Glomerular proteinuria tend to be more severe and cause hypoproteinemia.
- d. Fractional excretion
 - i. Fraction of a solute entering filtrate or tubular fluid that is ultimately excreted.
 - ii. Increased FE
 - 1. Plasma analyte concentration is increased
 - 2. Increased tubular secretion of analyte
 - 3. Decreased tubular resorption of analyte
 - iii. Decreased FE – opposite of increased causes.
 - iv. Electrolyte clearance compared to creatinine clearance
 - v. Formula: FE =

$$\frac{\text{Urine}_{\text{electrolyte}}/\text{Serum}_{\text{electrolyte}}}{(\text{Urine}_{\text{creatinine}}/\text{Serum}_{\text{creatinine}})} \times 100$$
 - vi. FE of Sodium most commonly used.
 - vii. FE of Phosphorus and Potassium less common
 - viii. Not commonly used in veterinary medicine
- e. Water deprivation tests – used in PU/PD animals
 - i. Abrupt Water deprivation test
 - ii. Gradual Water deprivation test
 - iii. Vasopressin response test
 - iv. Discussed mainly in Medicine courses

INTERPRETAÇÃO DO LEUCOGRAMA*

Alexander Welker Biondo

DVM, MSc, PhD
Departamento de Medicina Veterinária
Setor de Ciências Agrárias
Universidade Federal do Paraná
Curitiba – PR - Brasil
abiondo@cvm.uic.edu

Introdução

O hemograma completo é uma ferramenta importante na clínica de cães e gatos. Ele pode ser utilizado em filhotes para se atestar o estado de saúde do animal, ou ainda em casos clínicos na busca diagnóstica, prognóstica e no monitoramento da resposta à terapia. Embora o hemograma sozinho constitua recurso diagnóstico limitado na maioria dos casos, com raras exceções (cinomose, *Babesia* e *Ehrlichia* sp no encontro de inclusões ou agente, ou hemogramas típicos de piometra ou leptospirose, por exemplo), ele estabelece um ponto de partida para o diagnóstico rápido e preciso. No hemograma, informações preciosas podem ser obtidas sobre as três séries sangüíneas: hemácias, leucócitos e plaquetas.

A avaliação dos leucócitos ou leucograma envolve interpretação dos parâmetros desta série, que inclui a contagem total de leucócitos, contagem diferencial de leucócitos, morfologia e inclusões leucocitárias. A contagem total de leucócitos pode estar acima (leucocitose), dentro e abaixo (leucopenia) dos limites de referência. Uma avaliação mais detalhada da leucocitose ou leucopenia envolve a interpretação da contagem diferencial de leucócitos. Neste caso, embora os valores percentuais sejam sempre mais simples de interpretar, os valores absolutos devem ser primariamente utilizados na interpretação. Os leucócitos em cães e gatos são os neutrófilos, linfócitos, monócitos, eosinófilos e basófilos.

Leucocitoses

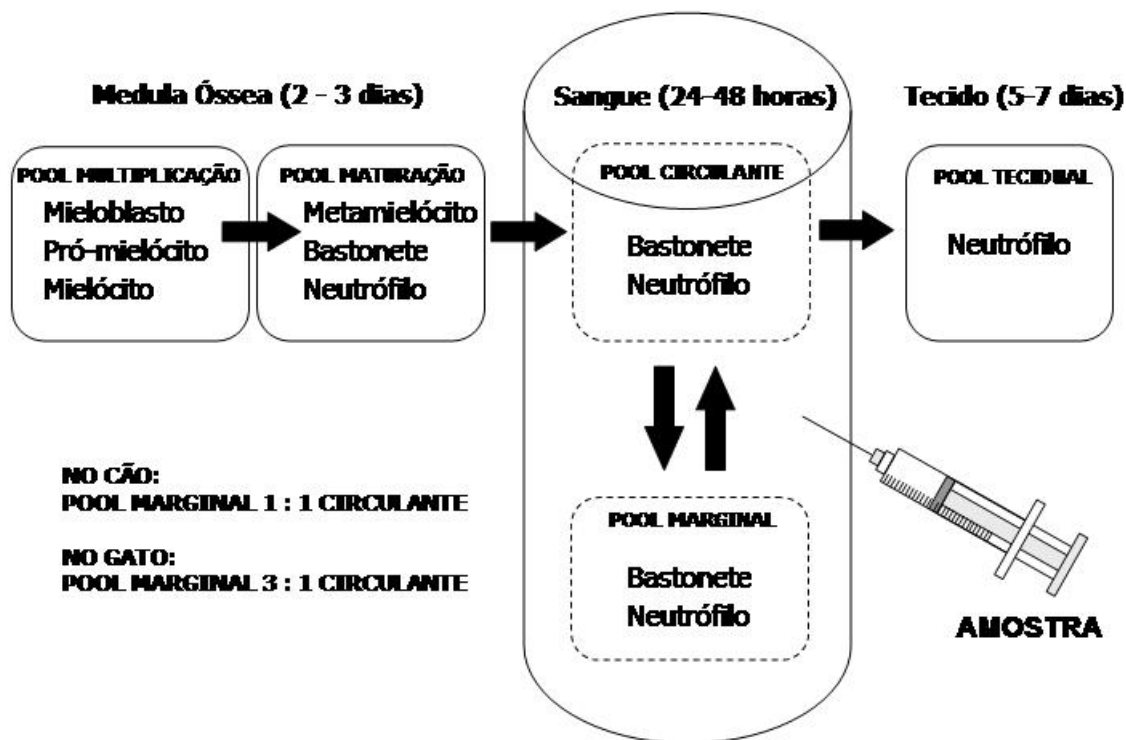
A leucocitose deve ser interpretada como o aumento de leucócitos na circulação sangüínea periférica, onde o sangue é obtido principalmente das veias cefálica, safena e jugular. Marcada leucocitose, maior que 70.000/ μ L no gato e maior que 65.000/ μ L no cão são indicadores sensíveis de mau prognóstico.

São quatro as principais causas de leucocitose em cães e gatos, na ordem em que deveriam ser consideradas ou descartadas: 1. Resposta às catecolaminas, 2. Resposta aos glicocorticóides, 3. Inflamação e 4. Neoplasias.

Para melhor entender o mecanismo fisiopatológico das leucocitoses, observe a figura abaixo dos compartimentos dos neutrófilos:

* Biondo, A.W. (2005). Interpretação do leucograma. In: González, F.H.D., Santos, A.P. (eds.): *Anais do II Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil*. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. pp.29-35.

COMPARTIMENTOS (POOL) DE NEUTRÓFILOS



1. Resposta às catecolaminas: estímulo do sistema simpático, gerado por reação de medo ou “fuga e luta”, com liberação de adrenalina e noradrenalina.

A liberação destes mediadores causa constrição de musculatura lisa vascular e esplênica, com desvio de leucócitos do compartimento marginal para o compartimento circulante. Como a amostra de sangue é retirada do compartimento circulante, os leucócitos que normalmente estariam aderidos à margem dos vasos acabam por aumentar artificialmente os leucócitos na circulação. Levando-se em conta que o compartimento marginal no cão se assemelha ao compartimento circulante, espera-se em torno do **dobro de leucócitos no cão** quando comparado com o limite superior de referência para esta espécie. Em contrapartida no gato o compartimento marginal é três vezes maior que o circulante. Assim sendo, **a leucocitose no gato pode atingir quatro vezes** o limite superior de referência nos casos de ativação deste sistema simpático. Como identificar esta interferência? Assumindo que o desvio ocorre em todas as séries, espera-se um aumento de leucócitos em todas elas, ou seja, **neutrofilia, linfocitose possivelmente monocitose e eosinofilia.**

As catecolaminas causam ainda hiperglicemia considerável nos gatos, e devido à contração esplênica com desvio desta reserva para o compartimento circulante, o aumento do volume globular e plaquetas na circulação. Esta resposta é ainda associada com excitação ou medo, exercício ou relato de dificuldade na obtenção da amostra de sangue. O efeito de catecolaminas é fugaz, e dura em torno de 5-10 minutos. Deste modo, em particular nos gatos,

esperar um pouco para que o animal se acalme pode poupar o clínico do trabalho de colher, acondicionar, enviar, pagar e obter ao final do dia um leucograma não representativo.

2. Resposta aos glicocorticóides: estímulo da adrenal com liberação de hormônios glicocorticóides caracterizando o **estresse**, ou ainda, o uso de drogas (por exemplo, a prednisolona).

Neste caso, a ação imunossupressora do corticóide, quer seja endógena ou exógena, se reflete nos diversos tipos de leucócitos, e seus efeitos têm um pico de 4 a 8 horas, **podem durar de 24 horas** com efeitos de corticóides de curta duração, **a até 2 a 3 dias** com casos de 10 dias no caso de corticoterapia de longa duração.

A liberação de corticóides no compartimento circulante causa **neutrofilia** por diversos motivos. O hormônio causa uma diminuição na migração de neutrófilos para o compartimento tecidual (diapedese), e aumenta o tempo destes neutrófilos na circulação. Causa ainda aumento da liberação destes pela medula óssea, e também desvio do compartimento marginal para o circulante. A neutrofilia causada pelos corticóides produz via de regra um aumento menor do que duas vezes o limite superior de referência, e raramente acima de três vezes. Este desvio do compartimento marginal para o compartimento circulante também é a principal causa da **monocitose**.

A **linfopenia** por glicocorticóides é causada por redistribuição dos linfócitos circulantes, com seqüestro nos tecidos linfóides e medula óssea, e ainda pode causar lise de alguns tipos de linfócitos nos linfonodos.

A **eosinopenia** surge como conseqüência da marginação ou seqüestro de eosinófilos nos tecidos, inibição de sua liberação na medula óssea, e ainda inibição de citocinas estimuladoras de eosinófilos.

Como identificar esta interferência? Em resumo, a ação de glicocorticóides endógenos (estresse) ou exógenos produz **leucocitose por neutrofilia e monocitose** tal como na ação de catecolaminas, mas neste último caso espera-se **linfopenia e eosinopenia**.

3. Inflamação: dependendo do tipo e duração da resposta inflamatória ou imune, a inflamação pode resultar em leucocitose devido à neutrofilia, linfocitose, monocitose e eosinofilia. Estas causas de linfocitose serão discutidas em detalhes a seguir.

4. Neoplasia: a transformação neoplásica dos precursores pode resultar em produção exacerbada de leucócitos; a neoplasia linfóide é a mais comum em cães e gatos.

Neutrofilias

Os neutrófilos são células de primeira linha da defesa orgânica que se originam na medula óssea (ver figura), provenientes das células-tronco, e diferenciam-se em mieloblastos, pro-mielócitos, mielócitos, metamielócitos, bastonetes e finalmente segmentados neutrófilos, os quais são então liberados na circulação.

A neutrofilia em cães e gatos pode variar de discreta ($<20.000/\mu\text{L}$) a extrema ($>100.000/\mu\text{L}$). Na neutrofilia inflamatória, existe uma ordem natural de maturação destas células, no sangue e medula óssea caracterizado por maior número de neutrófilos segmentados quando comparados com bastonetes, e mais bastonetes que metamielócitos e assim por diante. Os desvios à esquerda, que constitui na presença de bastonetes e outras células jovens, podem ser classificados como regenerativos, degenerativos ou leucemóides. A leucocitose por neutrofilia, com presença de bastonetes e outras células jovens, sem a perda desta relação de produção, caracteriza o chamado **desvio à esquerda regenerativo**, com o aumento de neutrófilos vem acompanhado de estímulo e liberação de células jovens. O **desvio à esquerda degenerativo** é caracterizado pelo número de células jovens superando o número de segmentados, ou quando ocorre perda da proporção maturativa (mielócitos $>$ metamielócitos $>$ bastonetes $>$ segmentados). A **reação leucemóide** se caracteriza pela marcante ou extrema leucocitose, normalmente associado com neutrofilia e desvio à esquerda severo.

As causas de neutrofilia podem ser inflamatórias (infecciosas, imunes, necrose), responsivas a glicocorticóides (estresse, hiperadrenocorticismo, terapia com corticóides), responsivas a catecolaminas (sistema simpático ou injeções de catecolaminas), neoplásicas (leucemia granulocítica ou neutrofilia paraneoplásica), além de causas ainda desconhecidas (deficiência na adesão de neutrófilos, intoxicação inicial por estrógenos).

Linfocitoses

Os linfócitos são células que se originam na fase embrionária e do recém-nascido nos órgãos linfóides primários (timo e medula óssea), e que colonizam os órgãos linfóides secundários (linfonodos, tonsilas, baço etc) gradativamente após o nascimento. Sendo assim, interpretação diferenciada deve ser conduzida a este leucócito, uma vez que destruição da medula óssea pode não afetar este tipo celular, assim como destruição do sistema linfático pode não refletir diretamente na contagem dos outros leucócitos. A linfocitose inflamatória é tipicamente discreta ($< 2 \times$ o limite superior de referência), mas ocasionalmente excede este valor em resposta de crônico estímulo do sistema linfóide.

A linfocitose pode surgir como consequência de resposta a catecolaminas, estimulação antigênica (em particular animais jovens, associada ao aumento de linfonodos, sob crônica estimulação infecciosa), hipoadrenocorticismo e neoplasias (linfoma, leucemia linfóide e timoma).

Monocitoses

Uma monocitose inflamatória é tipicamente discreta ($< 2 \times$ o limite superior de referência) mas pode ocasionalmente exceder os $10.000/\mu\text{L}$. A monocitose é normalmente acompanhada por neutrofilia; no entanto a contagem de linfócitos pode variar. Como referido, a monocitose por glucocorticóides é discreta e acompanha neutrofilia e linfopenia, enquanto a

monocitose por catecolaminas se caracteriza por neutrofilia e linfocitose. Os processos inflamatórios incluem infecções bacterianas (por riquetsias, fúngicas e protozoárias) e necrose, responsiva a corticóides (estresse, hiperadrenocorticismos, terapia por corticóides) e neoplásicas (leucemia monocítica ou mielomonocítica). Em geral a monocitose acompanha neutrofilia, e está associada a supuração, necrose, neoplasias malignas em hemólise.

Eosinoflias

Um discreto aumento de eosinófilos deve ser interpretado cuidadosamente pelas suas possíveis causas. Os tecidos com maior número de eosinófilos são aqueles onde se requer uma maior vigilância devido ao contato com o meio externo, a saber a pele, os pulmões e o aparelho gastro-intestinal.

Normalmente a eosinofilia é encontrada discreta ou moderada, e surge em processos de hipersensibilidade (dermatites, asma), parasitismo (ectoparasitas, vermes em geral), condições eosinofílicas idiopáticas (miosite, gastroenterite, panosteite, pneumonite, complexo granuloso em cães, e complexo granuloma, enterite e síndrome em gatos), degranulação de mastócitos, mastocitomas, hipoadrenocorticismos e neoplasias (leucemia eosinofílica, eosinofilia paraneoplásica).

Leucopenias

Neutropenia

Neutropenias podem ser causadas por quatro motivos principais

- A. Marginalização de neutrófilos circulantes, por desvio do compartimento circulante para o marginal causada por endotoxinas
- B. Excessiva demanda tecidual ou destruição, por infecção onde a taxa de diapedese e desvio para o compartimento tecidual é maior que a reposição de neutrófilos pelos compartimentos de maturação e produção da medula óssea. Pode ainda ser causada por destruição imuno-mediada, embora muito rara.
- C. Redução na produção de neutrófilos, quer seja por mielotoxicidade causada por radiação, drogas, infecções virais e por riquetsias, entre outros.
- D. Granulopese defeituosa, com produção não efetiva de neutrófilos. Situação incomum em pequenos animais, com exceção de gatos com infecção por FeLV e síndromes mielodisplásicas.

Neutropenia pode ser resultado de grave infecção em cães e gatos levando à sepsis por agentes bacterianos gram negativos, como salmonelose, ou ainda enterite por parvovirose. Sepsis nestes casos, e também em infecções pulmonares, torácicas, peritoneais, intestinais ou uterinas, podem ser a causa da neutropenia, e ainda agravadas por endotoxemia.

Linfopenia

Uma linfopenia pode ocorrer quando há perda de linfa orgânica, ou na hipoplasia de tecido linfóide. A ocorrência de linfopenia associada à leucocitose reflete uma resposta a uma doença inflamatória aguda ou ainda resposta a glicocorticóides. Na doença inflamatória, algumas citocinas que promovem migração neutrofilica também atuam em linfócitos, retirando-os da circulação para os tecidos linfóides.

As causas de linfopenia incluem resposta a glicocorticóides (corticosteróides, hiperadrenocorticismo), infecção sistêmica aguda (septicemia, endotoxemia, vírus), indução terapêutica (radioterapia, quimioterapia, drogas imunossupressivas), Perda de tecido rico em linfócitos (quilotórax, doença cardíaca felina, linfomas etc) e desordens hereditárias (severa imunodeficiência combinada).

Outras leucopenias

Como referido anteriormente, a eosinofilia pode ser responsiva a glicocorticóides, mas também pode surgir como uma consequência do efeito beta-adrenérgico das catecolaminas. Monocitopenias e ou basopenias não possuem valor clínico em sua interpretação.

Morfologia leucocitária

Presença de **grânulos tóxicos** em neutrófilos pode representar maturação incompleta ou defeituosa de neutrófilos, o que ocorre durante rápida neutropoiese de marcado estado inflamatório. Outras mudanças tóxicas dos neutrófilos incluem basofilia citoplasmática, vacuolização citoplasmática e corpúsculos de Döhle.

Neutrófilos hipersegmentados são também um sinal de morfologia anormal, acontecem quando cinco ou mais lobos nucleares separados por filamentos são vistos, e podem representar inflamação crônica ou neutrofilia responsiva a glicocorticóides. Este fato pode ser visto também como **desvio à direita**, com presença de células mais velhas na circulação. A hiposegmentação de neutrófilos, ou seja a não segmentação normal destas células, assim como a assincronia maturativa nuclear, também são alterações relacionadas com a maturação anormal de neutrófilos.

Considerações finais

Tenha em mente sempre que um único hemograma pode não ser suficiente para revelar uma situação clínica, em particular se está melhorando ou piorando. O leucograma deve ser sempre interpretado em associação à história clínica e exame físico, além dos outros procedimentos realizados como antibióticoterapias, fluidoterapias, cirurgias. Pense sempre na interferência das catecolaminas e glicocorticóides não como um fator de limitação na sua interpretação, mas sim num fator de prevenção no ato da colheita da amostra.

Referências bibliográficas

- COWELL, R. L. *Veterinary Clinical Pathology Secrets - Questions and Answers Reveal the Secrets of Veterinary Clinical Pathology*. Saint Louis, Elsevier Mosby, 2004.
- FELDMAN, B. F., ZINKL, J. G., JAIN, N. C. *Schalm's Veterinary Hematology*. 5 ed. Baltimore, Lippincott Williams & Wilkins, 2000.
- HARVEY, J. W. *Atlas of Veterinary Hematology*. 1 ed. Philadelphia, WB Saunders, 2001.
- KANEKO, J. J., HARVEY, J. W., BRUSS, M. L. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 5 ed. San Diego, Academic Press, 1997.
- LATIMER, S. K., MAHAFFEY, E. A., PRASSE, K. W. *Duncan & Prasse's Veterinary Laboratory Medicine - Clinical Pathology*. 4 ed. Ames, Iowa State Press, 2003.
- MESSICK, J. B. *The Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice - Hematology*. 1 ed. Philadelphia, WB Saunders, 2003.
- OSBORNE, C. A., STEVENS, J. B. *Urinalysis: a clinical guide to Compassionate Patient Care*. 1 ed. Shawnee Mission, Bayer Corporation, 1999.
- STOCKHAM, S. L., SCOTT, M. A. *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology*. 1 ed. Ames, Iowa State Press, 2002.
- WILLARD, M. D., TVEDTEN H. *Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods*. 4 ed. Saint Louis, Saunders, 2004.

DOENÇAS MIELOPROLIFERATIVAS *

Alexander Welker Biondo

DVM, MSc, PhD
Departamento de Medicina Veterinária
Setor de Ciências Agrárias
Universidade Federal do Paraná
Curitiba – PR - Brasil
abiondo@cvm.uic.edu

Introdução

Antes de iniciarmos nossa conversa sobre as doenças mieloproliferativas, precisamos definir alguns conceitos sob a óptica da patologia clínica veterinária. As desordens ou **doenças hematopoiéticas** têm origem na medula óssea, linfonodos, baço ou timo. Elas são classificadas em linfoproliferativas e mieloproliferativas. As desordens ou doenças **linfoproliferativas** são bem mais frequentes em pequenos animais do que as mieloproliferativas, e incluem neoplasias como leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfocítica crônica, linfomas, e mieloma múltiplo. As desordens ou doenças **mieloproliferativas** incluem as leucemias mielóide, monocítica, megacariocítica e eritrocítica, juntamente com as síndromes mielodisplásicas. Cada grupo destes é subclassificado como agudo ou crônico e isso denota basicamente o curso clínico da doença, além de sugerir o grau de imaturidade observado. Neste capítulo, nosso foco será concentrado nas desordens mieloproliferativas e sua origem, biologia e características.

Leucemia é definida como doença neoplásica envolvendo células sanguíneas neoplásicas as quais são vistas no sangue periférico ou medula óssea. Estas células malignas substituem as células normais da medula óssea, com proliferação clonal anormal de células hematopoiéticas. Normalmente, mas não sempre, este aumento na medula óssea vem acompanhado de aumento nas células sanguíneas no sangue periférico. O termo **agudo** é utilizado para descrever leucemias com predominância de blastos na medula óssea, e **crônico** quando células bem diferenciadas que predominam nestes sítios. Mesmo sob tratamento adequado, normalmente as leucemias agudas são de progressão rápida (semanas) e as crônicas de progressão mais lenta (anos). Estas células podem, com o decorrer da doença, invadir outros órgãos como baço, linfonodos e fígado. Apesar dos precursores de **mastócitos e histiócitos** surgirem também da medula óssea, estas neoplasias normalmente apresentam células maduras na circulação. Conseqüentemente, elas não são incluídas nas desordens mieloproliferativas, apesar de algumas doenças destas séries apresentarem características de neoplasias hematopoiéticas.

* Biondo, A.W. (2005). Doenças Mieloproliferativas. In: González, F.H.D., Santos, A.P. (eds.): *Anais do II Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil*. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. pp.36-42.

Abaixo temos uma tabela com a classificação das desordens mieloproliferativas em medicina veterinária, segundo Feldman et al (2000):

Tabela 1. Classificação das desordens mieloproliferativas*

Desordens mieloproliferativas agudas		Desordens mieloproliferativas crônicas
AUL	Leucemia aguda indiferenciada	- Leucemia mielóide crônica
MO	Leucemia diferenciada minimamente**	Leucemia mielógena crônica
M1	Leucemia mieloblástica sem maturação	Leucemia basofílica crônica
M2	Leucemia mieloblástica com maturação	Leucemia eosinofílica crônica
M3	Leucemia promielocítica	Leucemia monocítica crônica
M4	Leucemia mielomonocítica	Leucemia mielomonocítica crônica
M5	Leucemia monocitóide	- Policitemia Vera
	M5a Leucemia monoblástica	- Trombocitemia essencial
	M5b Leucemia monocítica	- Mielofibrose idiopát. c/ metaplasia mielóide
M6	Eritroleucemia	- Leucemia mastocítica
M7	Leucemia megacariocítica	
Síndromes mielodisplásicas (MDS)		
Citopenia refratária (MDS – RC)		
Excesso de blastos (MDS – EB)		
Predominância eritróide (MDS – Er)		
Leucemia mielomonocítica crônica (CMMoL)		

* Segundo Feldman et al. (2000).** Restrita diferenciação mielóide.

Outro fundamento importante das células neoplásicas é a **clonalidade**, ou seja, todas estas células são derivadas de uma única célula-tronco, que se tornou neoplásica em determinado ponto do desenvolvimento celular. Embora sendo uma única célula a origem da neoplasia, o mecanismo molecular é multifatorial e envolve diversos processos de controle da multiplicação e do crescimento celular. Neste cenário, as radiações são importantes fatores de desencadeamento neoplásico pela quebra e alteração do DNA, e as infecções virais pela integração de oncogenes no DNA da célula hospedeira.

A classificação das leucemias é baseada na presumível origem celular. A tentativa de identificação inicia-se com a caracterização morfológica utilizando-se colorações de Romanowsky. Apesar de bastante útil, este reconhecimento não é suficiente para definir um diagnóstico, e por isso faz-se necessária sua confirmação por colorações citoquímicas, imunofenotipagem, e estudo ultraestrutural. O reconhecimento citoquímico das células neoplásicas e ou blastos pode ser feito em esfregaços de sangue periférico ou de medula óssea. Em geral, Peroxidase (PER) ou Sudan Black B (SBB) são geralmente positivos para blastos M1, M2, M4, M5 (fracamente positivo) e M6, e negativos para leucemia aguda indiferenciada, M5 (pode corar com PAS), M7 e leucemia linfocítica. O diagnóstico citológico mais específico pode ser obtido com uso de esterase cloroacetato, fosfatase alcalina, esterases não específicas, fosfatase ácida, beta-glucuronidase e azul de toluidina, entre outros.

Desordens mieloproliferativas agudas

As leucemias mielóides agudas são desordens mieloproliferativas originárias da hematopoiese de células-tronco que controlam a produção granulocítica, monocítica, eritrocítica e megacariocítica. Estas leucemias se caracterizam, em contraste com leucemias crônicas e síndromes mielodisplasias, por numerosos blastos ($\geq 30\%$) na medula óssea. Os sinais clínicos são não específicos e semelhantes a outras desordens hematopoiéticas. Letargia, inapetência, fraqueza, febre, esplenomegalia, hepatomegalia, e discreta linfadenopatia, associados à leucocitose, anemia severa e trombocitopenia são freqüentemente observados. Blastos podem ser observados na circulação periférica, mas sua ausência pode ser observada na leucemia aleucêmica ou sub-leucêmica.

Tabela 2. Classificação esquemática das leucemias mielóides agudas*

Células eritróides na medula óssea					
$\leq 50\%$ Blastos ¹		$> 50\%$			
		Blastos ²		Blastos ³	
$>30\%$	$\leq 30\%$	$>30\%$	$\leq 30\%$	$\leq 30\%$	$>30\%$
↓ AUL AML	↓ MDS CML	↓ M6	↓ MDS-Er	↓ MDS-Er	↓ M6-Er

*Segundo Feldman (2000). ¹Referente ao % do total de células nucleadas. ²Referente ao total de células não eritróides na medula óssea. ³Referente ao total de células nucleadas incluindo rubroblastos. AUL = leucemia indiferenciada aguda, AML = leucemia mielóide aguda, MDS = síndrome mielodisplásica, CML = leucemia mielóide crônica, M6 = eritroleucemia, MDS-Er = MDS com predominância eritróide, M6-Er = eritroleucemia com predominância eritróide.

A leucemia aguda mieloblástica (M1 e M2) e a leucemia mielomonocítica (M4) são as leucemias mielóides agudas mais referidas em cães. Várias síndromes mielodisplásicas e leucemias agudas (eritroleucemia, leucemia mielomonocítica) foram descritas em gatos, particularmente em associação com FeLV e FIV. A diferenciação das leucemias mieloproliferativas agudas não é tão importante (quanto das linfoproliferativas) pois possuem protocolo de tratamento semelhante, além de limitado sucesso terapêutico.

As leucemias mielomonocíticas são as mais freqüentes em cães e gatos, caracterizadas por monocitose do sangue periférico com anemia discreta a moderada. As leucemias M5a geralmente apresentam uma percentagem maior de monoblastos e pró-monócitos quando comparadas com M5b, onde as células leucêmicas são mais diferenciadas.

A leucemia eritroblástica aguda ou eritroleucemia tem origem em um precursor pluripotencial com diferenciação em células da série eritróide e mielóide. Esta leucemia é caracterizada por alterações maturativas das duas séries no sangue periférico. No exame da medula óssea, as células eritróides representam mais de 50% do total, com as células mielóides acima de 30% das demais células. Mielose eritrêmica é considerada uma subcategoria desta

leucemia, caracterizada por excessiva produção eritróide associada a moderada para severa anemia, macrocitose, anisocitose, e poucos reticulócitos.

A leucemia megacarioblástica é uma variante da leucemia M7 com proliferação clonal de megacariócitos na medula óssea caracterizada por micromegacariócitos, formas anãs, hipolobulação e 30% do total de células nucleadas da medula óssea constituído por megacarioblastos. Mielofibrose pode estar presente como consequência dos mediadores liberados pela linhagem megacariocítica.

Desordens mieloproliferativas crônicas

Não se tem no presente momento critérios concretos para o diagnóstico definitivo de leucemias mielóides crônicas em medicina veterinária. Em humanos, alterações do cromossomo Filadélfia (Ph) têm sido relacionadas com diversas formas de leucemias crônicas.

As leucemias mielógena ou granulocítica crônicas podem ser caracterizadas por uma profunda leucocitose com neutrofilia diferenciada e desvio a esquerda, variando de 40 a 160.000 células/ μ L. Anemia, trombocitopenia e trombocitose são ainda referidos nestes casos. A relação M:E varia de 3,5 a 23:1, com hiperplasia mielóide e relativa maturação celular. Os gatos são freqüentemente positivos para FeLV. Como a leucocitose exacerbada é a única alteração consistente, o clínico deve avaliar este sinal criteriosamente e diferenciá-lo das causas inflamatórias infecciosas, imunomediadas e de outros processos leucêmicos.

A leucemia eosinofílica é considerada crônica e uma variante da leucemia granulocítica, de difícil diferenciação da Síndrome hipereosinofílica idiopática. A leucemia eosinofílica se caracteriza por hipereosinofilia acompanhada um aumento de imaturas formas na circulação e na medula óssea, como progressão mais rápida e maior número de formas precursoras imaturas e anemia mais severa sem causa aparente. Esta leucemia pode ser experimentalmente induzida em gatos com FeLV. O diagnóstico diferencial deve ser feito das demais causas de hipereosinofilia tais como bronquite alérgica, parasitismo interno e externo, reações de hipersensibilidade, enterites e complexo granuloma eosinofílicos, e ainda síndromes paraneoplásicas. Sinais clínicos incluem vômitos, diarreia, hepatoesplenomegalia e linfadenopatia periférica. Algumas alterações laboratoriais podem ser encontradas, como eosinofilia absoluta, eosinófilos imaturos hipogranulares, anemia e trombocitopenia.

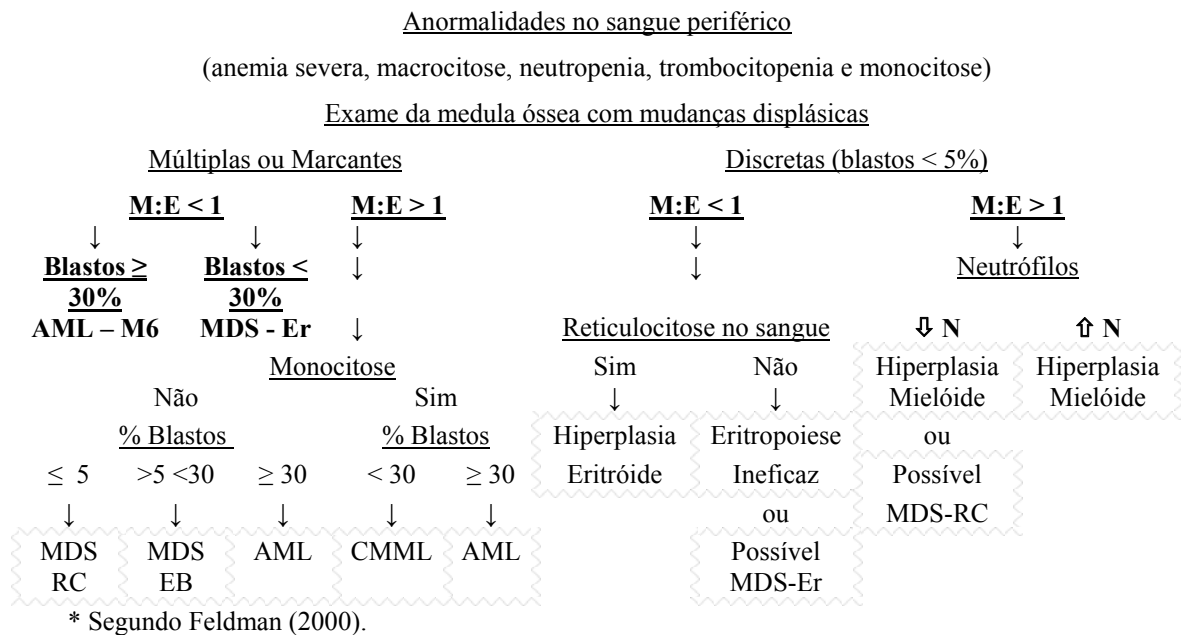
A trombocitemia essencial é uma doença mieloproliferativa crônica caracterizada por proliferação anormal de megacariócitos de morfologia normal na medula óssea. A trombocitose geralmente é maior que 600.000 plaquetas / μ L, com macroplaquetas e granulação anormal e sem presença de formas imaturas na circulação. Hipercalemia causada pela liberação plaquetária deste íon pode ser observada. Outras causas de trombocitose devem ser descartadas, tais como anemia ferropriva, inflamação crônica, anemia hemolítica, contração esplênica e induzida por drogas.

A eritrocitose primária ou policitemia Vera é desordem mieloproliferativa crônica onde ocorre uma proliferação clonal neoplásica de hemácias independente dos níveis de eritropoietina. Esta doença se caracteriza por aumento de volume globular, hemoglobina e contagem eritrocitária. O diagnóstico diferencial deve ser feito de outras causas de policitemia, tanto relativas tais como desidratação, contração esplênica, exercício, quanto absolutas tais como doenças cardio-pulmonares, altas altitudes, exercício crônico, hemoglobinopatias e neoplasias renais.

Síndromes mielodisplásicas

As síndromes mielodisplásicas (MDS ou SMD) são um grupo de desordens hematopoiéticas que se originam, assim como as leucemias mielóides agudas e as desordens mieloproliferativas crônicas, de células-tronco hematopoiéticas. Apesar de ser heterogênea em suas anormalidades laboratoriais, a MDS possui **hematopoiese ineficaz e distúrbios de maturação** característicos das neoplasias mieloproliferativas. Como pode evoluir para outras leucemias, a MDS pode ser vista como uma **pré-leucemia**. As MDS são desordens neoplásicas, clonais, e letais em muitos casos mesmo que não progrida para outras leucemias devido às severas citopenias conseqüentes da inabilidade da medula óssea em produzir células sanguíneas. Embora a maioria das causas de MDS ainda continua desconhecida, em torno de 20% pode ser relacionada com quimioterápicos, radiação, solventes, e em gatos com FeLV (80% dos gatos com MDS são positivos para FeLV).

Figura 1. Abordagem no diagnóstico das Síndrome Mielodisplásicas (MDS)*



Os **sinais clínicos** das MDS são variados e não característicos. Os sinais compreendem a citopenias, particularmente anemia, febre, letargia, fraqueza, perda de peso, inapetência e dispnéia. Infecções bacterianas e fúngicas recidivantes, devido à deficiência de leucócitos, e epistaxes e petéquias devido à trombocitopenia, são freqüentes. Aumento de linfonodos, esplenomegalias são associadas a CMMoL.

O **diagnóstico** das quatro subcategorias de MDS, mostradas na Tabela 1, é baseado na identificação morfológica e quantitativa das alterações no sangue periférico e medula óssea. A identificação imunofenotípica e citogenética pode oferecer subsídios quanto ao correto diagnóstico e prognóstico. O mau prognóstico geralmente acompanha alta percentagem de blastos na medula óssea e citopenias múltiplas e severas. A MDS é caracterizada por anormalidades no sangue periférico, associadas a alterações na medula óssea de uma ou mais séries, displasia maturativa e ainda menos de 30% de blastos na medula óssea. As alterações morfológicas da **série eritróide** compreendem aumento do percentual de metarrubrócitos e pró-rubrócitos, rubroblastos megaloblásticos, mudanças nucleares, tais como núcleo lobulado, fragmentado e múltiplo, sideroblastos e siderócitos, e ainda macrócitos normocrômicos. Na série **megacariocítica** encontram-se megacariócitos anãos, formas hipolobuladas, e macroplaquetas hiper e hipogranuladas. Na série **granulocítica** pode-se observar aumento da percentagem de mieloblastos e pró-granulócitos na medula óssea, núcleos hipo e hipersegmentados, formas gigantes, alteração dos grânulos de eosinófilos.

Diagnóstico diferencial deve ser feito das deficiências nutricionais e ou induzidas por drogas que interfiram principalmente com folato, piridoxina e cobalamina. Cloranfenicol, Vincristina e intoxicação por chumbo podem mimetizar várias alterações sangüíneas e

medulares. Mesmo com menor ocorrência, causas imunomediadas, congênitas, inflamatórias, paraneoplásicas e síndromes idiopáticas devem ser consideradas.

A **sobrevida** após diagnóstico varia de poucos dias a meses, devido à severidade e estágio avançado das citopenias com a presença de sinais clínicos. Em muitos casos a eutanásia é recomendada logo após o diagnóstico, e o prognóstico depende do percentual de blastos e gravidade das citopenias por ocasião do diagnóstico. MDS é a maior causa de mielofibrose em gatos, e deve ser considerada como um fator importante na sobrevida de cães e gatos.

Considerações finais

A correta realização do hemograma e exame de medula óssea, se possível seriados, é fundamental para o diagnóstico das desordens mieloproliferativas. Alterações do hemograma e da medula óssea, associadas com as séries eritróide, mielóide e megacariocítica, devem ser detalhadas e direcionadas para as causas mais frequentes, fazendo-se uma lista de possíveis diagnósticos. O adequado reconhecimento e quantificação dos blastos na medula óssea devem ser feitos criteriosamente, e baseados em um guia padrão de identificação.

Em caso de dúvidas, não hesite em recorrer a profissionais com mais recursos e experiência. Informações sobre o caso clínico, incluindo histórico e fotos digitais dos achados de lâmina, tanto do sangue periférico como da medula óssea, podem ser facilmente compartilhados com profissionais do Brasil e do Exterior. A Sociedade Americana de Patologia Clínica Veterinária possui uma lista de discussão para sócios onde estes casos podem ser facilmente compartilhados com todos os membros da sociedade (www.asvcp.org).

Referências bibliográficas

- LATIMER, S. K., MAHAFFEY, E. A., PRASSE, K. W. *Duncan & Prasse's Veterinary Laboratory Medicine - Clinical Pathology*. 4 ed. Ames, Iowa State Press, 2003.
- MESSICK, J. B. *The Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice - Hematology*. 1 ed. Philadelphia, WB Saunders, 2003.
- FELDMAN, B. F., ZINKL, J. G., JAIN, N. C. *Schalm's Veterinary Hematology*. 5 ed. Baltimore, Lippincott Williams & Wilkins, 2000.
- STOCKHAM, S. L., SCOTT, M. A. *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology*. 1 ed. Ames, Iowa State Press, 2002.
- WILLARD, M. D., TVEDTEN, H. *Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods*. 4 ed. Saint Louis, Saunders, 2004.
- HARVEY, J. W. *Atlas of Veterinary Hematology*. 1 ed. Philadelphia, WB Saunders, 2001.
- COWELL, R. L. *Veterinary Clinical Pathology Secrets - Questions and Answers Reveal the Secrets of Veterinary Clinical Pathology*. Saint Louis, Elsevier Mosby, 2004.
- KANEKO, J. J., HARVEY, J. W., BRUSS, M. L. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 5 ed. San Diego, Academic Press, 1997.

ANEMIA E POLICITEMIA* (Resumo)

Roberta Graça

DVM, MSc
Patologista Clínica certificada pela
Associação Americana de Patologia Clínica
graca@uiuc.edu

Anemia

Um animal é considerado anêmico quando o hematócrito, a hemoglobina e/ou a contagem de eritrócitos estão abaixo de seus valores de referência. Existem diferentes maneiras de se classificar anemias e cada uma tem seu valor. A eficácia da medula óssea na produção de hemácias pode ser avaliada através da contagem de reticulócitos ou através da avaliação citológica desta, em conjunto com o eritrograma.

Dependendo dos resultados, a anemia é classificada em regenerativa ou não regenerativa. Já os índices hematológicos (MCV e MCHC) e a citometria de fluxo (método utilizado em alguns instrumentos de hematologia) são utilizados na análise morfológica da anemia. Os achados mais comuns são a anemia macrocítica hipocrômica (indicando regeneração), normocítica normocrômica (indicando resposta inadequada da medula óssea) e microcítica hipocrômica (indicando deficiência de ferro). Na citometria de fluxo, as hemácias são separadas de acordo com volume e concentração de hemoglobina e um gráfico demonstra as sub populações de hemácias. Esse método é mais sensível do que a avaliação dos índices, pois estes só aumentam ou diminuem quando há um grande número de hemácias alteradas.

Diante de prós e contras de cada tipo de classificação, o ideal é avaliar a anemia usando o maior número de dados possíveis incluindo os índices, o gráfico da citometria de fluxo (se presente), contagem de reticulócitos, avaliação de policromasia e anisocitose no sangue periférico e em alguns casos a avaliação da medula óssea.

Depois de classificação, a causa da anemia pode ser especulada. Perda, destruição, (deficiência de) produção e sequestro são as grandes categorias das causas de anemia.

No caso de perda (hemorragia) e destruição, a resposta esperada é de uma anemia regenerativa, macrocítica hipocrômica, com aumento no número de reticulócitos, hiperplasia eritróide na medula óssea com policromasia e anisocitose no sangue periférico. Sendo que, no caso de anemia hemolítica a resposta tende a ser mais acentuada do que em casos de hemorragia aguda.

Caso haja produção deficiente ou inadequada de eritrócitos pela medula óssea, a anemia é não regenerativa, mas a classificação morfológica pode variar, sendo a anemia normocítica normocrômica a mais comum. No caso de deficiência de eritropoetina (insuficiência renal

* Graça, R (2005). Anemia e policitemia (Resumo). In: González, FH.D., Santos, A.P. (eds.): *Anais do II Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil*. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. pp. 43-45.

crônica) e anemia de doença crônica, o resultado esperado é o de uma anemia não regenerativa, normocítica normocrômica, contagem de reticulócitos normal ou diminuída e medula óssea contendo células eritróides em número normal ou levemente diminuído. No caso de patologia primária de medula óssea, os achados são semelhantes, mas o exame citológico de medula óssea demonstra hipoplasia eritróide. Já em casos de deficiência de ferro, a anemia é geralmente microcítica e hipocrômica e raramente há aumento no número de reticulócitos.

Os casos de seqüestro de hemácias no baço são mais comuns nos cavalos, sendo incomum em cães e gatos. Nesses animais, algumas neoplasias altamente vascularizadas podem causar seqüestro de eritrócitos (juntamente com destruição ou não) e a resposta é altamente variável dependendo do nível de anemia.

As causas de anemia dentro de cada categoria são extremamente diversas e variam de acordo com a espécie, mas a anemia relacionada a doenças crônicas é a que mais acomete todas as espécies. No caso da anemia hemolítica imunomediada, os cães (especialmente as cadelas) são os mais afetados, enquanto anemias hemolíticas relacionadas à formação de corpúsculo de Heinz são mais prevalentes em gatos.

Cada tipo de anemia tem suas particularidades e por isso, sua avaliação deve ser o mais completa possível, especialmente nos casos de anemia não regenerativa, onde a contagem de reticulócitos e o exame citológico da medula óssea são imprescindíveis para o tratamento e prognóstico do animal.

Policitemia

O termo geralmente usado quando o número de hemácias, o hematócrito e/ou a concentração de hemoglobina estão aumentados, é policitemia ao invés de eritrocitose. O termo policitemia tem origem no termo *Policitemia Vera* e acabou sendo empregado erroneamente.

A policitemia é bem menos freqüente que a anemia e sua classificação é mais simples. É classificada em relativa e absoluta, sendo esta sub-dividida em primária, secundária e atípica.

A policitemia relativa é a mais comum e está relacionada a hemoconcentração, devido à diminuição do volume plasmático, ou à contração esplênica, que libera um grande número de eritrócitos na circulação devido ao estímulo da epinefrina.

No caso da policitemia absoluta, a secundária é a mais comum e ocorre devido ao aumento na produção da eritropoetina em resposta a hipóxia. Já na atípica, há um aumento de eritropoetina não relacionado a hipóxia. A policitemia absoluta primária costumava ser chamada de policitemia vera em alusão a uma doença mieloproliferativa que acomete humanos, onde há proliferação descontrolada de todas as linhagens celulares. Em animais, o termo correto para a proliferação descontrolada da linhagem eritróide, independente da produção de eritropoetina, é eritrocitose primária. Ela geralmente não é acompanhada da proliferação dos outros tipos celulares, é de ocorrência rara e já foi diagnosticada em gatos e cães.

A diferenciação entre relativa e absoluta é geralmente simples, através de histórico, nível de desidratação e hemogramas em série. No caso de absoluta primária, secundária e atípica, o diagnóstico pode se tornar mais laborioso. A dosagem de eritropoetina (aumentada na secundária e atípica, normal ou diminuída na primária), juntamente com a identificação da fonte de hipóxia (se presente), pode diferenciar os tipos. É importante lembrar que na maior parte dos casos, a avaliação da medula óssea não é capaz de diferenciar os três tipos. Também se deve levar em consideração que a eritrocitose primária é extremamente rara.

Referências bibliográficas

- FELDMAN, B. F.; ZINKL, J.G., JAIN, N. C. *Schalm's Veterinary Hematology*. 5^a ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000.
- MESSICK, J. B. *The Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice - Hematology*. 1 ed. Philadelphia, WB Saunders, 2003.

AVALIAÇÃO DA HEMOSTASIA E DISTÚRBIOS DA COAGULAÇÃO*

Andrea Pires dos Santos

Médica Veterinária, MSc
Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre, RS, Brasil
deavet@gmail.com

Introdução

A hemostasia é o mecanismo que mantém a fluidez do sangue pelos vasos. Inclui o controle da hemorragia e a dissolução do coágulo, por meio de eventos mecânicos e bioquímicos. Didaticamente pode-se dividir a hemostasia em primária, secundária e terciária, embora os três processos estejam inter-relacionados. Na hemostasia primária, tem-se vasoconstrição local, adesão e agregação plaquetária com conseqüente formação de um tampão plaquetário inicial. A hemostasia secundária compreende uma série de reações em cascata cujo resultado final é a formação de fibrina a partir do fibrinogênio que confere estabilidade ao coágulo. A hemostasia terciária ou fibrinólise é ativada na mesma ocasião da coagulação, existindo um equilíbrio fisiológico entre as mesmas, onde a plasmina atua degradando a fibrina e desfazendo o coágulo formado. Os vasos sanguíneos também participam ativamente no processo de coagulação.

Hemostasia primária

Na hemostasia primária, tem-se vasoconstrição local, adesão e agregação plaquetária com conseqüente formação de um tampão plaquetário inicial. Por agregação plaquetária entende-se a fixação de uma plaqueta em outra e por adesão entende-se a fixação de uma plaqueta no vaso sanguíneo. Para que ocorra a agregação e a adesão é necessário que esteja presente o fator de von Willebrand, uma glicoproteína que facilita estas ações.

Cinética plaquetária

As plaquetas são formadas na medula óssea, a partir da célula pluripotencial (*stem cell*), que vai dar origem a linha megacariocítica. A primeira célula da linha dos megacariócitos é o **megacarioblasto** que vai formar o **pró-megacariócito** e **megacariócito**. A divisão celular cessa, mas a divisão nuclear continua. Pode-se encontrar células de 4 a 64 núcleos. Este processo é chamado endomitose. As plaquetas são simplesmente pequenos fragmentos do citoplasma do megacariócito liberados na corrente sanguínea. O citoplasma do megacariócito é formado por longos pseudopodes que penetram nos sinusóides das células endoteliais, liberando

* Santos, A.P. (2005). Avaliação da hemostasia e distúrbios da coagulação. In: González, FH.D., Santos, A.P. (eds.): *Anais do II Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil*. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. pp.46-61.

as plaquetas que são observadas como pequenos discos com grânulos vermelhos com 2 a 5 µm de diâmetro (em gatos o tamanho é variável) na circulação sanguínea.

Após a estimulação as plaquetas aparecem entre 3 e 5 dias, e são controladas pela trombopoetina e também pela eritropoetina, possuem uma vida média em torno de 8 dias, sendo que cerca de um terço das plaquetas são seqüestradas pelo baço.

- Valor normal em torno de 300 000/ µl.
- Menos que 100 000/µl é claramente uma trombocitopenia.
- 50 000/µl é suficiente para prevenir hemorragia.
- 20 000/µl ocorre hemorragia espontânea.

Função das plaquetas na hemostasia

A função primária das plaquetas é a manutenção da hemostasia por meio da interação com as células endoteliais mantendo a integridade vascular. Adesão, agregação e liberação plaquetária são eventos que podem ocorrer simultaneamente ou independentemente, dependendo das condições de estímulos e circunstâncias. O transtorno de qualquer um destes processos podem levar à desordens hemorrágicas. A **adesão** é a aderência das plaquetas no local da lesão. Esta adesão plaquetária ao endotélio é efetuada por meio de seus receptores de superfície para o colágeno e fator de Von Willebrand que, portanto o liga plaqueta ao colágeno do subendotélio. A **agregação** é uma resposta básica para a liberação de ADP na presença do cálcio. A reação de **liberação** promove a agregação de agrupamentos plaquetários e o acúmulo de mais plaquetas e assim uma série de reações em cadeia para formar uma capa para deter a hemorragia.

As plaquetas se aderem ao colágeno do sub-endotélio e liberam aminas vasoativas (serotoninas, catecolaminas, adrenalina e outras) que promovem a vaso constrição local com liberação de ADP (adenosina difosfato). O vaso contrai-se diminuindo o fluxo de sangue no local, causando a agregação das plaquetas em resposta a liberação de ADP na presença dos íons cálcio, formando a primeira camada de plaquetas. Estas plaquetas agregadas liberam ATP (adenosina trifosfato) que é degradado a ADP por ATPase que facilita a maior agregação das plaquetas no local da parede do vaso lesionado, sendo o suficiente para deter a hemorragia, constituindo a **primeira fase da coagulação**.

As plaquetas também são importantes na coagulação sanguínea por fornecer fosfolípido plaquetário (fator III plaquetário que atua como um acelerador dos processos de coagulação) e por carrear vários fatores de coagulação em suas superfícies.

Após a formação da primeira camada, inicia-se um depósito dos fatores de coagulação, culminando com a transformação do fibrinogênio em fibrina, havendo um depósito sobre as plaquetas, formando um trombo que constitui a **fase terminal da coagulação sanguínea**.

Após a formação do tampão hemostático, iniciam-se os mecanismos fibrinolíticos, que promovem a degradação enzimática do fibrinogênio e da fibrina e outros fatores da coagulação ativados, permitindo o reparo definitivo da injúria vascular e o controle sobre os eventos trombóticos. A manutenção do sangue dentro dos vasos e a sua fluidez por dentro dos mesmos é mantida pelo equilíbrio entre a coagulação e a fibrinólise.

Hemostasia secundária

A hemostasia secundária compreende uma série de reações em cascata cujo resultado final é a formação de fibrina a partir do fibrinogênio que consolida desse agregado e dá estabilidade ao coágulo.

Cascata de coagulação

A cascata de coagulação é um mecanismo complexo de reações seqüenciais que culmina na formação de fibrina a partir do fibrinogênio. O conjunto de proteínas que atuam na coagulação (fatores de coagulação) estão representados na Tabela 1. Os fatores de coagulação são ativados predominantemente por exposição a tromboplastina tecidual, expressada na superfície das células endoteliais ou fibroblastos extravasculares. Logo após a ativação inicial, os fatores vão se ativando seqüencialmente e amplificando o estímulo inicial por *feedback*. A cascata de coagulação tradicionalmente se divide em sistema intrínseco, extrínseco e comum (Figura 1).

Tabela 1. Fatores de coagulação

Fator	Nome	Local de síntese	Meia vida plasmática
I	Fibrinogênio	Fígado	1,5 – 6,3 dias
II	Protrombina	Fígado, macrófagos	2,1 – 4,4 dias
III	Tromboplastina tecidual	Constituinte de fibroblastos e membrana plasmática de células musculares lisas	
IV	Cálcio		
V	Proacelerina	Fígado, macrófagos	15 – 24 horas
VII	Proconvertina	Fígado, macrófagos	1 – 6 horas
VIII:C	Fator anti-hemofílico	Fígado	2,9 dias
IX	Fator de Christmas	Fígado	24 horas
X	Fator de Stuard - Prower	Fígado, macrófagos	32 – 48 horas
XI	Antecedente da tromboplastina do plasma	Fígado (provavelmente)	30 horas
XII	Fator de Hageman	Fígado (provavelmente)	18 – 52 horas
XIII	Estabilizador da fibrina	Fígado (provavelmente)	4,5 – 7,0 dias
Precalicroina	Fator de Fletcher	Fígado (provavelmente)	35 horas
Cinogênio de alto peso molecular	Fator de Fitzgerald	Fígado (provavelmente)	6,5 dias

Fonte: Thrall et al. (2004)

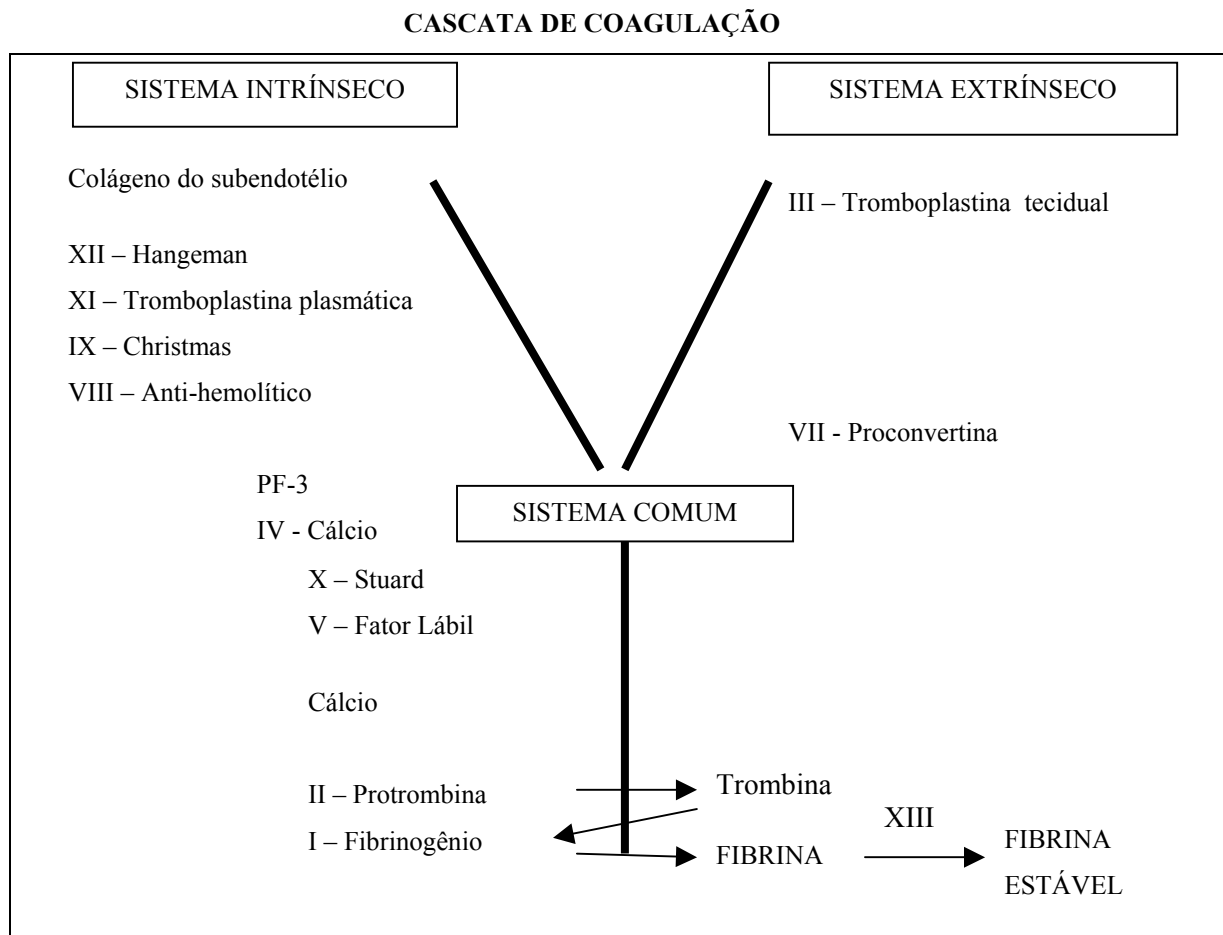
O **sistema intrínseco** está via de ativação se inicia com a parede vascular traumatizada, com o contato do sangue com o colágeno do sub-endotélio ou corpo estranho. Neste momento ocorre a ativação plaquetária e do fator XII que se ativa e subseqüentemente ativa o fator XI

(para essa reação é necessária a presença de cininogênio de alto peso molecular e precalicreína) este ativa o fator IX que ativa o fator VIII.

O **sistema extrínseco** se inicia por lesão vascular ou no tecido extravascular, que contém uma proteína de membrana denominada fator tecidual. O tecido danificado também libera tromboplastina o que ativa o fator VII (sistema extrínseco da coagulação).

A ativação destes fatores, mais a presença de fosfolipídios plaquetários e cálcio dão início ao **sistema comum**, pela ativação do fator X que em conjunto com esses fatores ativam a protrombina (fator II) que se converte em trombina (fator II ativado) que converte o fibrinogênio em fibrina. Após esta conversão, o fator XIII confere estabilidade a esta fibrina. A trombina é um potente pró-coagulante capaz de acelerar as reações da cascata formando grandes quantidades de fibrina.

Figura 1. Esquema simplificado da cascata de coagulação.



Recentemente tem se sugerido um novo esquema onde a ativação inicial pela tromboplastina tecidual forma uma quantidade de trombina e está daria início a amplificação e ativação dos sistemas intrínseco, extrínseco e comum.

A vitamina K é essencial na formação de várias proteínas da coagulação. Os fatores chamados vitamina K dependentes são: II, VII, IX e X que estão distribuídos nos três sistemas

da cascata de coagulação. São sintetizados em uma forma afuncional (acarboxiladas) e sofrem uma reação de carboxilação em que a vitamina K participa como cofator, produzindo centro de ligação para o cálcio, necessário para sua função normal. Durante esta reação a vitamina K é convertida num metabólito inativo (vitamina K-epóxido). A enzima epóxido-redutase é responsável pela reciclagem deste metabólito, convertendo-o para a forma ativa, razão pela qual a necessidade diária de vitamina K é pequena. Desordens na cascata de coagulação conferem ao animal uma **coagulopatia**.

Hemostasia terciária

A fibrinólise é ativada na mesma ocasião da coagulação, existindo um equilíbrio fisiológico entre as mesmas. A plasmina atua localmente no interior do coágulo e é imediatamente removida da circulação por líquidos orgânicos sistêmicos. Os produtos de degradação da fibrina (PDFs), formados pela ação da plasmina sobre a fibrina, são normalmente removidos por macrófagos.

Vaso sanguíneo

O endotélio é inerte, mas quando exposto ao colágeno sub-endotelial, ativa os mecanismos hemostáticos: ativando a adesão e agregação plaquetária e em seguida a ativação do fator XII (sistema intrínseco da coagulação). Além disso, as células endoteliais são ricas em tromboplastina que ativam o sistema extrínseco de coagulação.

Desordens vasculares podem ocorrer por deficiência de colágeno ou extensa lesão vascular e podem ser congênitas (raro) ou adquiridas. Dentre as adquiridas destacam-se:

- Desordens inflamatórias – como as causadas por bactéria, vírus, etc.
- Desordem imune.
- Tumores, trauma.

O diagnóstico de desordem vascular é feito quando os problemas plaquetários e de coagulação são descartados. Desordens vasculares podem ocorrer por problemas congênitos ou adquiridos como em uma extensa lesão por desordens inflamatórias, imunes ou tumores. Não existe técnica laboratorial que meça o status funcional dos vasos sanguíneos diretamente, suspeita-se de distúrbios vasculares quando todos os índices da coagulação estão normais.

Testes laboratoriais mais usados para desordens hemostáticas

A avaliação para as desordens hemostáticas depende de uma história clínica detalhada e bom exame físico. Na história clínica deve-se destacar história de sangramentos, trauma e cirurgia e levar em consideração a idade, raça, sexo e terapia com drogas. No exame físico deve-se observar a natureza do sangramento (tipo de hemorragia).

Contagem de plaquetas

É a avaliação quantitativa das plaquetas. Valor acima da referência da espécie confere uma trombocitose e valores abaixo, uma trombocitopenia. A contagem pode ser automática ou em um hemocítometro. A amostra deve ser coletada de forma não traumática, pois o trauma pode causar a ativação plaquetária com formação de agregados que podem falsamente diminuir o número de plaquetas. Requer amostra com EDTA (etileno diamino tetraacetato de sódio ou potássio). A contagem em hemocítometro possui alto coeficiente de erro (20 a 25%).

A contagem em gatos é difícil devido ao grande tamanho das plaquetas.

As plaquetas podem ser estimadas pela observação no esfregaço sanguíneo com objetiva de 100x. Deve-se contar no mínimo 10 campos e fazer uma média:

- 10 a 20 plaquetas/campo = normal
- 4 a 10 plaquetas/campo = trombocitopenia
- < que 4 plaquetas/campo = severa trombocitopenia
- 1 plaqueta/campo = 15.000 a 20.000 plaquetas/ μ L

A avaliação da morfologia das plaquetas também deve ser feita, a presença de macroplaquetas ou agregados plaquetários exerce influência sobre a contagem e função plaquetária e por isso devem ser descritos no laudo.

Valores normais de plaquetas/ μ L:

- Cão: 200.000 a 500.000
- Gato: 200.000 a 500.000
- Equino: 100.000 a 600.000
- Bovino: 200.000 a 800.000.

Avaliação de medula óssea

Pode ser indicada em casos de trombocitopenia e trombocitose para a investigação da causa, principalmente nos casos de trombocitopenia persistente e pancitopenia. A avaliação dos megacariócitos na medula óssea é baseada em seu número por espícula e adequada maturação. O número normal de megacariócitos, em campo de pequeno aumento em um cão é de um a três. Para avaliação do estágio de maturação, leva-se em consideração três grupos de células: megacarioblastos, pró-megacariócitos e megacariócitos. Em um cão normal, cerca de 70 a 84% da série megacariocítica são células maduras e 16 a 30% imaturas (megacarioblastos e pró-megacariócitos).

Quando os megacariócitos estão presentes, os possíveis mecanismos da trombocitopenia são: destruição ou consumo de plaquetas. Nestes casos o número pode estar aumentado. No caso dos megacariócitos estarem ausentes ou com maturação anormal, os prováveis mecanismos são: produção diminuída ou destruição de megacariócitos.

A avaliação da medula óssea é contra indicada nos casos de coagulopatias severas. Pode ser indicada em casos de trombocitopenia para procurar o mecanismo.

Megacariócitos presentes: destruição ou consumo de plaquetas (devem estar aumentadas).

Megacariócitos ausentes com maturação anormal: Produção diminuída ou destruição de megacariócitos.

Teste de função plaquetária: tempo de sangramento na mucosa oral (TSMO)

É uma prova de função plaquetária e só tem valor diagnóstico quando o número de plaquetas estiver acima de 75.000 plaquetas/ μ l. O procedimento consiste em um corte de 0,5 cm na mucosa oral onde se observa o tempo decorrido até a formação do primeiro coágulo. O tempo normal varia de 1,7 a 4,2 minutos.

Se o número de plaquetas estiver diminuído, o TSMO estará prolongado. Se o animal estiver com anormalidades na hemostasia secundária, o TSMO estará normal, porém pode ocorrer sangramento posterior a formação do tampão inicial.

Existem outras técnicas para verificar o tempo de sangramento, como o corte da parte viva de uma unha (no cão o sangramento deve cessar em 5 minutos e no gato em 3 minutos), plano nasal e gengiva.

Tempo de coagulação ativado (TCa)

Pode ser indicada em casos de trombocitopenia e trombocitose para a investigação da causa. Principalmente nos casos de trombocitopenia persistente e pancitopenia.

A avaliação dos megacariócitos na medula óssea é baseada em seu número por espícula e adequada maturação. O número normal de megacariócitos, em campo de pequeno aumento, em um cão é de um a três. Para avaliação do estágio de maturação, leva-se em consideração três grupos de células: megacarioblastos, pró-megacariócitos e megacariócitos. Em um cão normal, cerca de 70 a 84% da série megacariocítica são células maduras e 16 a 30% imaturas (megacarioblastos e pró-megacariócitos).

Quando os megacariócitos estão presentes, os possíveis mecanismos da trombocitopenia são: destruição ou consumo de plaquetas. Nestes casos o número pode estar aumentado. No caso dos megacariócitos estarem ausentes ou com maturação anormal, os prováveis mecanismos são: produção diminuída ou destruição de megacariócitos.

A avaliação da medula óssea é contra indicada nos casos de coagulopatias severas.

Tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa)

O TTPa (ou tempo de cefalina) recebe a denominação "tromboplastina parcial" porque ele é efetuado com o emprego da cefalina, a qual é parte da tromboplastina, após extração por meio de clorofórmio.

O TTPa é o tempo que o plasma leva para formar coágulo de fibrina após a mistura com cefalina (tromboplastina parcial), caulim (ativa fator XII) e cálcio. A cefalina é um substituto do fator plaquetário. Avalia o sistema intrínseco e comum. Requer amostra em citrato de sódio a

3,8% na relação de 1:9 (anticoagulante:sangue) e plasma separado por centrifugação. Este teste mede a deficiência de fatores abaixo de 30%.

Valores normais de TTPa (segundos):

- Cão: 6 - 16
- Gato: 9 - 20
- Equino: 27 – 45
- Bovino: 20 – 35

Muitos tipos de ativadores de contato são usados comercialmente para o TTPa, deve-se, portanto, proceder este teste em duplicata e de preferência concomitantemente com um animal normal. Além de se estabelecer valores de referência locais. A coleta não traumática é extremamente importante, pois a contaminação com tromboplastina tecidual pode prolongar o resultado do teste pela ativação do sistema extrínseco. A atividade do fator XIII da coagulação não é avaliada neste teste.

Esperam-se valores de TTPa prolongados em hemofílicos, deficiência de fatores XII, coagulação intravascular disseminada (CID), venenos cumarínicos e doença de Von Willebrand (dependendo da severidade).

Tempo de protrombina (TP)

O TP avalia o sistema extrínseco e comum pela adição de um fator tecidual, estimulando a coagulação pela via extrínseca. Os procedimentos com a amostra são semelhantes aos do TTPa.

Método: Faz-se a adição de tromboplastina tecidual (fator extrínseco) conseqüente recalcificação da amostra, cronometrando o tempo até a formação do coágulo de fibrina.

Valores normais de TP (segundos):

- Cão: 6,4 – 7,4
- Gato: 7 – 11,5
- Equino: 9,5 – 11,5

Os valores de referência variam na literatura, deve-se, portanto, proceder este teste em duplicata e estabelecer valores de referência locais. Pode-se usar um paciente controle. Se a diferença for de mais de 5 segundos tem-se um problema de coagulação. Espera-se TP prolongado em deficiência do fator VII, CID, veneno cumarínico e deficiência de fator I (fibrinogênio abaixo de 50mg/dl.)

Produtos de degradação da fibrina (PDFs)

A fibrina é quebrada pela plasmina em fragmentos. O aumento de PDFs indicam excessiva fibrinólise.

Método: aglutinação em látex por kits comerciais. Usado par diagnóstico de coagulação intravascular disseminada. Também aumentado após cirurgia.

Valores normais de PDF ($\mu\text{g/mL}$):

- Cão: < 40
- Gato: < 8
- Equino: < 16.

Fibrinogênio

O fibrinogênio é uma proteína de coagulação (fator I da coagulação) produzida pelo fígado. Também é chamado de proteína de fase aguda porque sua concentração no sangue aumenta rapidamente em resposta a processos inflamatórios. A amostra de sangue deve ser coletada com EDTA 10%. O método consiste no aquecimento do plasma a 56-58°C por 3 minutos e posterior centrifugação. O aquecimento do plasma precipita o fibrinogênio e a centrifugação o separa dos demais constituintes plasmáticos. Faz-se então a leitura das proteínas plasmáticas totais por refratometria e posteriormente a leitura do plasma com o fibrinogênio precipitado. A diferença dos valores obtidos refere-se a concentração de fibrinogênio plasmático. Está diminuído na CID.

Valores normais de fibrinogênio (g/L):

- Cão: 1 – 5
- Gato: 0,5 – 3
- Cavalo: 1 – 4
- Bovinos: 2 – 7

Distúrbios da coagulação

Desordens plaquetárias

A avaliação das plaquetas é realizada em dois níveis: quantitativos e qualitativos. Para avaliação quantitativa faz-se a contagem de plaquetas. A trombocitopenia (número reduzido de plaquetas) é a anormalidade mais comum das plaquetas.

Desordens plaquetárias quantitativas

Trombocitose

É o aumento do número de plaquetas acima do valor de referência para a espécie. A trombocitose pode ser reativa ou primária e ocorre com menos frequência.

- Reativa: doença crônica, deficiência de ferro, hiperadrenocorticismo, neoplasias, desordens no trato digestivo e endócrinas.
- Transitória: mobilização esplênica ou pulmonar (exercício).
- Trombocitose maligna: leucemia granulocítica, megacariocítica.

Trombocitopenia

É a diminuição do número de plaquetas abaixo do valor de referência para a espécie. A trombocitopenia é a anormalidade mais comum encontrada nas plaquetas e provavelmente é a

causa mais comum de diátese hemorrágica. São cinco os mecanismos que podem levar a uma trombocitopenia:

1. **Produção diminuída de plaquetas:** Os megacariócitos se encontram reduzidos. É indicado fazer uma avaliação de medula óssea para diagnóstico diferencial. Dentre as causas mais comuns, estão as seguintes:
 - 1.1. Mieloptise (geralmente pancitopenia)
 - a. Células neoplásicas
 - b. Mielofibrose
 - 1.2. Drogas (geralmente pancitopenia).
 - a. Quimioterapia – antagonistas do ácido fólico (vitamina B₁₂).
 - b. Excesso de estrógeno – megacariocitopenia reduzida.
 - c. Antibióticos e agentes anti-fúngicos.
 - 1.3. Estágios crônicos de doenças rickettsiais tais como erlichiose canina (geralmente leva a pancitopenia).
 - a. Destruição imunomediada de precursores megacariocíticos.
 - 1.4. Redução seletiva de plaquetas – pancitopenia pode não estar presente.
 - a. Produção defeituosa de trombopoetina.
 - b. Hereditariedade ou congenicidade.

2. **Destruição de plaquetas:** Os megacariócitos se encontram aumentados. É indicado fazer uma avaliação de medula óssea para diagnóstico diferencial de problema de produção. Dentre as causas mais comuns, estão:

- 2.1. Infecção: Produtos de endotoxinas cuja causa aparente é agregação e renovação, erlichiose, bactéria, vírus.
- 2.2. Tumores – Hemangioma / hemangiossarcoma
- 2.3. Imuno-mediada ou auto-imune.
- 2.4. Drogas – podem servir como carreadoras de proteínas as quais revestem as plaquetas e são reconhecidas por anticorpos. Removidas pelo sistema RE.

3. **Consumo de plaquetas:** como na coagulação intravascular disseminada (CID). Não é condição primária e ocorre secundariamente a uma ampla variedade de doenças. Atividade fibrinolítica produz quebra da fibrina aumentando os produtos de degradação (PDF) que têm potente atividade anticoagulante, aumentando a diátese. Os megacariócitos se encontram aumentados.

4- **Seqüestro ou distribuição anormal de plaquetas:** Megacariócitos aumentados na medula óssea.

- 4.1. Esplenomegalia.
- 4.2. Hepatomegalia.
- 4.3. Hipotermia

4.4. Endotoxemia

4.5. Neoplasia

5. Perda de plaquetas

Megacariócitos aumentados na medula óssea:

5.1. Perda massiva de sangue.

5.2. Transfusão incompatível.

Desordens plaquetárias qualitativas

Trombocitopatia

É a falha no mecanismo de aderência (plaqueta/vaso), agragação (plaqueta/plaqueta) ou uma falha na liberação de constituintes intracelulares ou qualquer combinação destes fatores. Trombocitopatias podem ser congênicas ou adquiridas e o número de plaquetas pode estar normal.

1. Trombocitopatias congênicas

- a. **Doença de von Willebrand:** pode afetar várias espécies animais e o homem. O fator de von Willebrand é uma glicoproteína multimérica produzida por megacariócitos e células endoteliais que facilita a adesão da plaqueta ao colágeno e vaso sanguíneo, a agregação plaquetária e, no plasma se associa com fator VIII estabilizando este fator e aumentando seu tempo de circulação. É a mais comum das desordens de sangramento hereditárias, sendo reconhecidas em mais de 54 raças de cães. Existem três tipos da doença:

Tipo I: multímeros normais, mas diminuídos.

Severidade variável

Forma mais comum

Comum em dobermans

Tipo II: Multímeros com defeito de função

Severidade variável

Comum em Ponter alemão

Tipo III: forma mais severa

Comum no Scottish terrier

- b. Trombopatia trombostênica canina: Falha na agregação. Observada em Otterhounds, Scottish Terriers, Foxhounds.
- c. Trombopatia do Basset Hound: Falha na agregação.
- d. Síndrome do Chediak-Higashi: Agregação plaquetária diminuída. Observada em bovinos e gatos.

2- Trombocitopatias adquiridas

São multifatoriais, mas essencialmente envolve defeitos de ativação, aderência, agregação e reação de liberação por causa de substâncias anormais no plasma ou anormalidade estrutural adquirida.

- a. Doença renal com uremia: adesividade reduzida ao endotélio. Esta anormalidade das plaquetas se deve aos metabólitos da uréia como o ácido guanidino succínico e fenólico
- b. Coagulação intravascular disseminada: Produtos de degradação da fibrina envolvem as plaquetas e reduzem a sua aderência e bloqueiam receptores de fibrinogênio, reduzindo a agregação.
- c. Disproteïnemias (macroglobulinemia) ou mieloma múltiplo: Afetam a membrana da plaqueta diminuindo a aderência.
- d. Drogas: Anti-inflamatórios não esteroidais. A aspirina gera uma inibição irreversível das plaquetas porque inibe tromboxano A₂ (inicia a agregação) e a função plaquetária fica dependente de uma nova produção. Drogas como Buprofen, fenilbutazona, indontacin causam inibição plaquetária reversível. Sulfonamidas, penicilinas, tranqüilizantes prozamínicos causam respostas variáveis.

A avaliação para as desordens hemostáticas depende de uma história clínica detalhada e de um bom exame físico. Na história clínica deve-se destacar história de sangramentos, trauma, cirurgia e levar em consideração idade, sexo, raça e terapia com drogas. No exame físico deve-se observar o tipo de sangramento. Hemorragias superficiais como petéquias e equimoses são sinais de problemas na hemostasia primária (trombocitopenia ou trombocitopatia) ou lesão vascular. Hemorragias, hematomas e hemartroses são prováveis sinais de problemas na hemostasia secundária, ou seja, nos fatores de coagulação. No caso de petéquias e equimoses, aconselha-se a seguir os seguintes passos:

1. Contagem de plaquetas: no caso de uma trombocitopenia, procurar a causa. Os possíveis mecanismos para a trombocitopenia são: produção diminuída, destruição, consumo, seqüestro ou perda. Para diferenciar problemas de produção pode-se fazer aspirado de medula óssea e observar o número e morfologia dos megacariócitos. No caso das plaquetas estarem em número normal, seguir o passo 2.
2. Tempo de sangramento na mucosa oral: no caso do tempo estar prolongado, tem-se uma trombocitopatia, deve-se, portanto diferencia-la em congênita ou adquirida. No caso do tempo de sangramento estar normal, deve-se suspeitar de desordem vascular.

Coagulopatias

As coagulopatias podem ser hereditárias ou adquiridas.

1- Coagulopatias hereditárias

São relacionadas a problemas de seleção genética. Sempre suspeitar em animais jovens, apresentando diátese hemorrágica.

1.1. Hemofilia A

- Sangramento severo em cães, cavalos, gatos e bovinos Hereford.
- Somente machos desenvolvem a doença, mas as fêmeas são portadoras.
- Sinais clínicos: hemartrose, hematomas e sangramento pelo trato gastrointestinal e urogenital.
- Ocorre pela perda do fator VIII na via transplacentária.
- Afeta animais jovens.
- Tratamento: Transfusão de sangue fresco, plasma ou crioprecipitado. A argenina-vasopressina sintética (DDAVP) pode promover a liberação do fator VIII dos hepatócitos para a circulação.
- Diagnóstico:

Tempo de sangramento: normal (diferente da doença de von Willebrand).

TP: normal.

TTPa: prolongado.

1.2. Doença de von Willebrand

- Não é deficiência de Fator VIII, esse apenas não se estabiliza.
- É a mais comum das coagulopatias hereditárias (54 raças).
- Diagnóstico:

Tempo de sangramento: prolongado.

TP: normal.

TTPa: pode estar prolongado.

1.3. Hemofilia B

- Fator IX
- Ocorre em cães e gatos (raro).
- Afeta somente machos.
- Diagnóstico:

TP: normal.

TTPa: prolongado.

1.4. Deficiência de fator VII

- Sistema extrínseco.
- Afeta Beagles e várias outras raças.
- Diagnóstico:

TP: prolongado

TTPa: normal

1.5. Deficiência de fator XII

- Sistema intrínseco.
- Afeta Poodles, Pointer Alemão, Sharpei e gatos.
- Diagnóstico:

TP: normal.

TTPa: prolongado.

1.6. Deficiência de fator XI

- Sistema intrínseco.
- Afeta cães e cabras.
- Diagnóstico:

TP: normal.

TTPa: prolongado.

1.7. Deficiência de fator X

- Sistema comum.
- Afeta Cocker Spaniel e Jack Russel Terrier
- Diagnóstico:

TP: prolongado.

TTPa: prolongado.

2- Coagulopatias adquiridas

2.1. Deficiência de vitamina K

- Os fatores II, VII, IX e X são vitamina K dependentes, ou seja, exigem vitamina K para sua formação.
- Maior causa: Antagonistas da vitamina K – Rodenticidas (ex: Warfarina e cumarínicos)
- Outras causas: Deficiência de sais biliares no intestino impede a absorção da vitamina K que é lipossolúvel.
- Doença hepática pode resultar na falta de utilização da vitamina.
- Diagnóstico:

TP: prolongado

TTPa: prolongado

2.2. Doença hepática

O fígado é o local de síntese de quase todos os fatores de coagulação. A meia vida do fator VII é mais curta do que as dos demais, por isso a determinação de sua atividade é utilizada como auxílio diagnóstico de doença hepática aguda ou crônica. Na doença hepática, fatores dos três sistemas (intrínseco, extrínseco e comum) são afetados, porém este quadro é observado somente em problemas severos. 50% dos gatos com lipidose hepática apresentam alterações nos fatores de coagulação. Para o diagnóstico da doença hepática podem ser utilizados os testes de função hepática, biópsia ou punção aspirativa com agulha fina.

Diagnóstico: TP e TTPa: prolongados.

2.3. Coagulação intravascular disseminada (CID)

É um distúrbio na qual ocorre trombose intravascular difusa na microvasculatura. É uma doença secundária de consumo, deve-se sempre buscar sua causa. Esta se manifesta como um defeito hemostático causado pela redução dos fatores da coagulação e plaquetas, resultando da sua utilização no processo trombótico. As propriedades anticoagulantes dos PDFs gerados pela ativação do sistema fibrinolítico também contribuem para o defeito hemostático.

- Várias doenças ativam a cascata de coagulação, consumindo fatores e plaquetas.
- Principais fatores – V, VII, e I (fibrinogênio).

Causas:

- Aumento do contato – ativação do sistema intrínseco
 - Viremia.
 - Endotoxemia.
- Aumento da Tromboplastina tecidual - ativa sistema extrínseco.
 - Trauma / necrose tecidual.
 - Hemólise intravascular.

Conseqüências da coagulação intravascular disseminada:

- Sangramento.
- Disfunção de órgãos pela deposição de fibrina.
- Anemia hemolítica.

Diagnóstico:

- TP: prolongado
- TTPa / TCa: prolongado
- PDF: aumentado
- Contagem de Plaquetas: diminuída
- Tempo de sangramento: prolongado
- Fibrinogênio: diminuído
- Fragmentos de eritrócitos podem ser vistos no esfregaço sanguíneo.

A hemostasia é o resultado do bom funcionamento das plaquetas, fatores de coagulação e vasos sanguíneos trabalhando em conjunto para manter a fluidez do sangue e reparar lesões vasculares. Problemas em qualquer ponto deste balanço podem resultar em coagulação excessiva (trombose) ou hemostasia inadequada (sangramento). O uso dos testes de coagulação tem por objetivo a procura da causa do problema hemostático adicionalmente a uma boa avaliação clínica.

Referências bibliográficas

BUSH, B. M. *Interpretation of Laboratory Results for Small Animal Clinicians*. Philadelphia: Blackwell Science, 1991.

- DUCAN, R. J., PRASSE, K. W., & MAHAFFEY, E. A. *Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology* 3rd ed., Ames; Iowa State University Press, 1994.
- FELDMAN, B. F.; ZINKL, J.G., JAIN, N. C. *Schalm's Veterinary Hematology*. 5^a ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000.
- HARVEY, J. W. *Atlas of Veterinary Hematology – Blood and Bone Marrow of Domestic Animals*. WB Saunders:Philadelphia, 2001.
- JAIN, N. C. *Essentials of veterinary hematology*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993.
- MESSICK, J.B. *Hematology*. The Veterinary Clinics of North America – Small Animal Practice. 1 ed. Philadelphia, WB Saunders, 2003.
- MEYER, D. J., & HARVEY, J. W. *Veterinary Laboratory Medicine: Interpretation and Diagnosis*. 2nd ed. Philadelphia; WB Saunders Co., 1998.
- THRALL, M. A. et al., *Veterinary Hematology and clinical Chemistry*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004.
- WILLARD, M. D., TVEDTEN, H., & TURNWALD, G. H. *Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods* . 2nd ed. Philadelphia; WB Saunders Co., 1994.

TRANSFUSÃO SANGÜÍNEA EM VETERINÁRIA: DESAFIOS A VENCER*

Luciana de Almeida Lacerda

Médica Veterinária
Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre, RS, Brasil
llacerda@portoweb.com.br

O histórico da transfusão sangüínea

A prática da transfusão sangüínea teve início no século passado na medicina humana, e vem evoluindo desde então. A primeira transfusão sangüínea entre seres humanos de que se tem registro ocorreu no século XVII. Entretanto, foi somente no início do século XX que as conquistas tecnológicas permitiram o uso mais difundido deste recurso. O reconhecimento das diferenças entre os indivíduos para a escolha do doador, o uso dos anticoagulantes durante a coleta e o domínio das técnicas de esterilização foram fundamentais para esta evolução. O fracionamento do sangue, que permite o uso isolado de cada um de seus elementos, e a identificação das doenças transmissíveis representam os avanços mais recentes desta forma de tratamento.

Na medicina veterinária, o processo foi um pouco mais lento, mas o interesse pela medicina transfusional tem crescido nestes últimos anos na medicina veterinária e atualmente existem grandes bancos de sangue veterinários em vários países do mundo que tornaram possíveis a prática da medicina transfusional veterinária de alta qualidade. Entretanto, sabe-se que isto não depende somente da disponibilidade de componentes sangüíneos e do uso adequado de cada um deles, mas também da qualidade destes componentes. Respeitar normas adequadas para coleta, processamento e armazenamento é a melhor maneira de alcançar os melhores resultados.

No Brasil, existem serviços de hemoterapia veterinária pouco especializados e recentemente um banco de sangue veterinário está se desenvolvendo na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ – USP). Modificações na prática da hemoterapia atualmente realizada nos hospitais veterinários brasileiros são necessárias, como o estabelecimento de programas de doadores para melhor atender a demanda de cada hospital ou clínica veterinária, a separação de hemocomponentes para melhor atender cada caso em que exista a necessidade de transfusão sangüínea e o controle de qualidade de seus produtos. A pesquisa nesta área precisa ser motivada para possibilitar uma melhor capacitação de médicos veterinários nesta área e melhorias na qualidade e rapidez do atendimento dos animais que necessitam do serviço de hemoterapia.

* Lacerda, L. (2005). Transfusão sangüínea em veterinária: desafios a vencer. In: González, F.H.D., Santos, A.P. (eds.): *Anais do II Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil*. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. pp.62-81.

Os tipos sanguíneos nos animais domésticos

Os grupos sanguíneos são definidos por antígenos espécie-específicos presentes na superfície dos eritrócitos. A maior parte dos antígenos é um componente integral de membrana composto por carboidratos complexos associados a lipídeos ou proteínas inseridos na membrana eritrocitária, sendo denominados de glicolipídeos ou glicoproteínas. Entretanto, estes antígenos também podem estar presentes nas plaquetas, nos leucócitos, nos tecidos e em fluidos (soro, saliva) do organismo. Contudo, a especificidade sorológica nestes casos é determinada pela estrutura do carboidrato.

Os antígenos eritrocitários podem variar em imunogenicidade e significado clínico e a detecção e a descrição destes ainda é feita através de testes sorológicos (anticorpos policlonais ou monoclonais). Na medicina veterinária, o significado clínico dos grupos sanguíneos está associado às reações transfusionais e à isoeritrolise neonatal. Os antígenos determinantes dos grupos sanguíneos, por serem marcadores genéticos, podem também ser utilizados para resolver casos de disputa de paternidade, além disso, mesmo que ainda não comprovado, podem estar envolvidos na anemia hemolítica imunomediada e podem servir como marcadores de doenças.

Os anticorpos contra os antígenos presentes nos eritrócitos são componentes importantes envolvidos nas reações transfusionais, são encontrados no plasma/soro e geralmente da classe IgM. Existem dois tipos associados à transfusão: os anticorpos de ocorrência natural e aqueles adquiridos após a exposição a outro tipo sanguíneo. Os anticorpos de ocorrência natural (aloanticorpos) estão presentes antes da exposição do animal a outro tipo sanguíneo. A síntese destes anticorpos se dá pela exposição a organismos como plantas, bactérias, protozoários e helmintos, que possuem moléculas similares ou idênticas aos antígenos encontrados na superfície dos eritrócitos e por isso podem levar a uma reação cruzada. Os anticorpos adquiridos são formados apenas após a exposição a outro tipo sanguíneo (seja por uma transfusão de sangue ou pela via transplacentária), quando ocorre a sensibilização e imunoestimulação para sua produção. Estas diferenças entre anticorpos influenciam o tipo e a severidade de uma reação transfusional, ou seja, ela pode ser aguda ou tardia, severa ou moderada.

Em humanos existe o sistema de grupos sanguíneos ABO, enquanto que os animais apresentam uma variedade de diferentes sistemas. O conhecimento sobre os tipos sanguíneos de diferentes espécies é de grande importância na medicina veterinária, visto que uma transfusão sanguínea incompatível pode resultar em uma reação transfusional hemolítica severa e até levar o animal à morte, em alguns casos.

Caninos

Os tipos sanguíneos da espécie canina são estudados por diversos grupos de pesquisadores de diferentes países. Nos Estados Unidos os tipos sanguíneos desta espécie são designados pela

sigla DEA (dog erythrocyte antigen). Atualmente o cão apresenta cinco grupos sanguíneos compostos por sete determinantes antigênicos, ou seja, DEAs 1 (subgrupos 1.1, 1.2 e 1.3), 3, 4, 5, 7 (Tabela 1). Os grupos DEA 6 e DEA 8 foram reconhecidos na Segunda Oficina Internacional em Imunogenética Canina, mas devido à inexistência de anti-soros para estes antígenos e à dificuldade na obtenção destes, tais anti-soros não têm sido estudados.

Pesquisadores do Japão desenvolveram 16 anti-soros, mas a comparação entre os anti-soros japoneses e americanos apenas conseguiu detectar especificidade semelhante em poucos grupos. Além disso, estes reagentes não são reconhecidos internacionalmente e não estão disponíveis comercialmente.

O grupo DEA 1 é o mais estudado, sendo a prevalência deste grupo bastante alta nos diferentes países em cães de raça e mestiços. A importância deste grupo está no fato de que anticorpos naturais contra ele não foram documentados, não ocorrendo reações nas primeiras transfusões. Porém, uma vez sensibilizados em transfusões prévias, os pacientes podem desenvolver reações transfusionais hemolíticas graves se receberem o mesmo tipo sanguíneo em uma transfusão seguinte. Um cão pode apresentar qualquer combinação dos antígenos eritrocitários, com exceção dos antígenos do sistema DEA 1 (por serem alelos do mesmo locus). Por exemplo: DEA 1.1, 3 e 4 ou DEA 1.1, 4 e 7 (Tabela 2).

Tabela 1. Prevalência dos antígenos eritrocitários caninos.

<i>Autor</i>	Nº de cães	Prevalência do grupo sanguíneo DEA (%)					
		1.1	1.2	3	4	5	7
Swisher & Young (1961)	332	40	20	6	98	22	45
Suzuki et al. (1975)	217	36	51	10	nd	nd	nd
Vriesendorp (1976)	31	37	4	5	56	8	31
Ejima et al. (1986)	545	44	22	24	nd	nd	nd
Giger et al. (1995)	224	33	7	nd	97	nd	8
Novais (1996)	150	51	40	nd	nd	nd	nd

nd = não descrito. Fonte: Novais (2003).

Os grupos DEA 3 e DEA 5 apresentam baixa incidência na população canina dos Estados Unidos (6% e 10%, respectivamente). Contudo, os cães da raça Greyhound apresentaram uma prevalência de 23% para o grupo DEA 3. O fator DEA 7 não é um antígeno integral de membrana eritrocitária. Acredita-se que seja secretado no plasma e adsorvido sobre a superfície das hemácias. Estudos indicam que estes grupos podem provocar reações transfusionais tardias, caracterizadas pelo seqüestro e destruição das hemácias no baço em um período de 72 horas. Sendo assim, os cães positivos para estes grupos não devem ser usados como doadores de sangue, exceto para cães do mesmo tipo sanguíneo.

A prevalência do grupo DEA 4 é bastante alta na população canina, atingindo índices de 98%. A importância deste grupo está no fato de que anticorpos naturais anti-DEA 4 raramente

ocorrem e, além disso, os cães DEA 4 negativos sensibilizados não apresentam hemólise intra ou extravascular, após terem sido transfundidos com sangue DEA 4 positivo, ou seja, os cães negativos para todos os outros grupos e positivos somente para o DEA 4 são considerados “doadores universais”. Sendo assim, os cães que só apresentam reações positivas para o grupo DEA 4 são os melhores doadores de sangue. Apenas uma ocorrência de reação transfusional hemolítica foi recentemente descrito na literatura.

Tabela 2. Frequência de combinações entre os grupos sanguíneos em cães domésticos mestiços no Estado de São Paulo (n = 150).

Combinações de grupos sanguíneos	Nº de animais	Porcentagem (%)
DEA 1.1 e DEA 4	52	35
DEA 1.2/1.3 e DEA 4	46	32,5
DEA 1.1, DEA 3 e DEA 4	10	7
DEA 1.1, DEA 4 e DEA 7	6	4
DEA 1.2/1.3, DEA 4 e DEA 7	6	4
DEA 1.1, DEA 4 e DEA 5	6	4
DEA 1.1	4	3
DEA 1.2/1.3	4	3
DEA 4 e DEA 7	4	3
DEA 1.2/1.3, DEA 4 e DEA 5	2	1,5
DEA 1.1, DEA 3, DEA 4 e DEA 5	2	1,5
DEA 1.1 e DEA 3	2	1,5
DEA 1.2/1.3, DEA 3, DEA 4 e DEA 7	2	1,5
DEA 1.1, DEA 3, DEA 4 e DEA 7	2	1,5
DEA 1.2/1.3, DEA 3 e DEA 4	1	0,6
DEA 1.1, DEA 4, DEA 5 e DEA 7	1	0,6

Fonte: Novais (2003).

Felinos

Os tipos sanguíneos dos felinos e as incompatibilidades entre eles, incluindo modo de herança genética, severidade das reações transfusionais, e a incidência de isoeritrolise têm sido estudados durante as últimas duas décadas.

O sistema de grupos sanguíneos em felinos possui três tipos: A, B e AB, sendo que este último é muito raro. O tipo A é dominante sobre B (na maior parte dos casos), gatos tipo A podem ser homozigotos AA ou heterozigotos AB. Os animais tipo B são sempre homozigotos BB. A exceção à regra é o grupo AB que é muito raro, mas no qual parece que A e B expressam codominância. Entretanto, os antígenos de superfície eritrocitária deste sistema são diferentes daqueles do sistema ABO humano.

Os felinos apresentam anticorpos de ocorrência natural (também conhecidos como aloanticorpos) contra o antígeno do tipo sanguíneo que não possuem e o teste de compatibilidade e a tipagem sanguínea se tornam muito importantes na prevenção de reações transfusionais na prática da clínica veterinária. Apenas o felino tipo AB não possui anticorpos

de ocorrência natural, portanto pode receber sangue de todos os tipos do sistema e é conhecido como receptor universal entre os felinos.

A incompatibilidade sangüínea pode causar reações potencialmente fatais sob duas circunstâncias. A primeira é a reação hemolítica transfusional, especialmente quando um gato tipo B recebe sangue tipo A. A meia-vida dos eritrócitos transfundidos entre gatos compatíveis (isto é, tipo A para tipo A ou tipo B para tipo B) é de 29 a 39 dias. A transfusão de sangue tipo A em um gato tipo B resulta em uma rápida destruição do sangue do doador (meia-vida de 1,3 horas) com severos sinais clínicos (hipotensão, defecção, vômitos, hemoglobinemias, depressão neurológica) e até a morte. A transfusão de sangue tipo B em um gato tipo A produz sinais clínicos leves, a meia-vida dos eritrócitos transfundidos é de 2,1 dias. Devido à presença destes anticorpos de ocorrência natural, a prova de compatibilidade sangüínea deve ser realizada antes da primeira transfusão (especialmente naquelas raças de alta incidência do tipo B e AB). A segunda reação de incompatibilidade é a isoeritrolise neonatal felina, que ocorre durante a fase de amamentação de filhotes tipo A ou AB, nascidos de uma fêmea tipo B. A reação de incompatibilidade é causada pelos aloanticorpos anti-A da fêmea que são transferidos aos filhotes pelo colostro ou pelo leite durante o primeiro dia de vida e que destroem os eritrócitos tipo A ou AB. Os filhotes podem morrer dentro de poucos dias.

Estudos realizados no mundo todo revelam que o tipo A é o tipo sangüíneo mais comum. Entretanto, observou-se que a proporção dos gatos tipo B varia consideravelmente de acordo com a região geográfica (Tabela 3). A frequência de gatos tipo B também varia muito entre raças (Tabela 4), enquanto que gatos tipo AB são raros. Estudos recentes demonstraram que os felinos selvagens possuem os mesmo tipos sangüíneos dos gatos domésticos.

O tipo A é de longe o tipo mais prevalente em felinos, mas entre certas raças puras, a frequência do tipo B é bem mais alta (Devon Rex, British Shorthair, Exotic Shorthair, Turkish Van and Turkish Angora), apesar das percentagens variarem de zero a 60% dependendo da raça. Entre os SRD's a porcentagem alta do tipo B foi visto em algumas regiões geográficas dos EUA.

O conhecimento da distribuição dos grupos sangüíneos na população local de felinos pode auxiliar na determinação do risco da ocorrência de reações transfusionais, enquanto que o conhecimento dos títulos de aloanticorpos pode auxiliar na determinação da severidade destas reações. Entretanto, parece que a incidência de reações transfusionais de significado clínico é baixa, e isto provavelmente reflete uma falha no reconhecimento das complicações resultantes de uma transfusão. É essencial que se faça um teste de compatibilidade entre doador e receptor antes da primeira transfusão em felinos. Os métodos mais indicados para se assegurar da compatibilidade entre doador e receptor são ambos: prova cruzada (teste de compatibilidade sangüínea) e a tipagem sangüínea.

Tabela 3. Frequência de tipos sanguíneos em gatos domésticos de diferentes países.

País	N	Tipo A (%)	Tipo B (%)	Tipo AB (%)	Referências
Austrália	1895	73,3	26,3	0,4	Auer & Bell (1981)
Austria	101	97	3	0	Giger et al (1992)
Inglaterra	477	97,1	2,9	0	Holmes (1950)
Finlândia	61	100	0	0	Giger et al (1992)
França	350	85,1	14,9	0	Eyquem et al (1962)
Alemanha	600	94,0	6,0	0	Giger et al (1992)
Holanda	95	95,8	3,1	1,1	Giger et al (1992)
Itália	401	88,8	11,2	0	Giger et al (1992)
Japão	265	89,3	1,0	9,7	Ejima et al (1986)
Escócia	70	97,1	2,9	0	Giger et al (1992)
Suíça	137	87,6	8,0	4,4	Knottenbelt et al (1999)
Estados Unidos	1018	99,6	0,4	0	Giger et al (1992)
	1072	99,7	0,3	0	Giger et al (1989)
	3785	98,1	1,7	0,1	Giger et al (1991b)

Fonte: Knottenbelt (2002).

Tabela 4. Frequência de grupos sanguíneos em quatro raças de felinos de diferentes países.

Raça	País	N	Tipo A (%)	Tipo B (%)	Tipo AB (%)
Americano pêlo curto	Estados Unidos	15	100		
Inglês pêlo curto	Estados Unidos	85	41,2	58,8	
	Reino Unido	105	41,0	57,1	1,9
Persa	Estados Unidos	170	75,9	24,1	
	Reino Unido	16	87,5	12,5	
	Itália	38	97,4	2,6	
Siamês	Alemanha	25	84,0	16,0	
	Estados Unidos	99	100		
	Reino Unido	4	100		

Fonte: Knottenbelt (2002).

Teste de compatibilidade sanguínea (prova cruzada)

A compatibilidade entre o sangue de dois indivíduos é determinada através a chamada "Prova Cruzada". O sangue do doador é testado contra o sangue do receptor, para verificar a ocorrência de aglutinação das hemácias (formação de grumos - aglutinação), indicativa de incompatibilidade.

A prova cruzada completa é realizada em duas etapas. A 1ª etapa ou *Major Crossmatching* consiste em misturar uma pequena quantidade do sangue total ou suspensão de hemácias do sangue doador com uma pequena quantidade de soro do receptor. O resultado positivo é dado a partir da observação de grumos (macroscopicamente) e a aglutinação dos eritrócitos

(microscopicamente). Esta é a etapa é considerada a mais importante. Na 2ª etapa ou *Minor Crossmatching*, uma pequena quantidade de sangue total ou uma suspensão de hemácias do sangue do receptor é misturada com o soro do doador e, do mesmo modo, pesquisa-se a formação de grumos de hemácias. A ausência de grumos nas duas etapas da prova cruzada significa que a transfusão pode ser realizada.

Ao realizar a prova, deve-se evitar hemólise durante a coleta e o anticoagulante (EDTA) deve estar em volume adequado para não diluir a amostra. Laboratórios de referência, em geral, realizam o teste completo em tubos a temperatura ambiente, a 37°C e a 4°C (opcional), incluindo o teste de antiglobulina canina polivalente (Teste de Coombs indireto). O sangue deve ser compatível a 37°C (máxima atividade dos anticorpos anti-DEA 1.1. e anti-DEA 1.2). Alguns autores alegam que incompatibilidades a 4°C não causam reações transfusionais.

A prova cruzada pode ser realizada através de uma técnica rápida em lâmina de microscopia ou através de uma técnica mais demorada em tubos de ensaio. A técnica rápida em lâmina de microscopia consiste nos seguintes passos:

1) Coletar 0,5 a 1mL de sangue do doador em dois frascos (um com EDTA e outro sem anticoagulantes), identificar os tubos.

2) Coletar 0,5 a 1mL de sangue do receptor em dois frascos (um com EDTA e outro sem anticoagulantes), identificar os tubos.

3) Centrifugar o sangue do doador e do receptor a 1000-1500g por 5-10 min para separar os eritrócitos do plasma e do soro.

4) Separar o plasma e as células do doador e do receptor sempre utilizando pipetas diferentes.

5) Preparar uma solução a 4% do receptor e uma do doador (0,2 mL do concentrado eritrócitos e 4,8 mL de solução salina). Esta diluição em solução salina retarda a formação de rouleaux e facilita a observação microscópica, mas resulta em uma aglutinação menos intensa. Uma diluição maior pode provocar a não reatividade dos aloanticorpos e pode ainda não eliminar a formação de rouleaux totalmente.

6) Identificar 4 lâminas de microscopia: Controle Doador (eritrócitos do doador + soro/ plasma do doador), *Major Crossmatch* – Doador x Receptor (eritrócitos do doador + soro/ plasma do receptor), *Minor Crossmatch* – Receptor x Doador (eritrócitos do receptor + soro/ plasma doador), Controle Receptor (eritrócitos do receptor + soro/ plasma do receptor).

7) Em cada uma das lâminas, mistura uma gota do soro/ plasma e uma gota da suspensão de eritrócitos ou duas gotas do soro/ plasma e uma gota do concentrado de eritrócitos.

8) Misturar com uma espátula/pipeta ou outro material disponível.

9) Misturar por inclinação da lâmina e observar se ocorre aglutinação macroscópica dentro de 2 minutos.

10) Colocar uma lâmina sobre a mistura e observar se ocorre aglutinação microscópica (objetivas 40x a 100x) dentro de 5 minutos.

11) Verificar se há aglutinação, se ocorrer é positivo (incompatível).

A seguir, a técnica em tubos de ensaio:

1) Coletar 0,5 a 1 mL de sangue do doador em dois frascos (um com EDTA e outro sem anticoagulantes), identificar os tubos.

2) Coletar 0,5 a 1 mL de sangue do receptor em dois frascos (um com EDTA e outro sem anticoagulantes), identificar os tubos.

3) Centrifugar o sangue dos tubos sem anticoagulante do doador e do receptor a 1000-1500g por 5-10 min para separar os eritrócitos do soro.

4) Separar o plasma e as células do doador e do receptor sempre utilizando pipetas diferentes.

5) Lavar os eritrócitos três vezes em solução salina antes de preparar a solução a 4%: colocar 0,5 a 1 mL de sangue em um tubo e completar com solução salina, homogeneizar por inversão do tubo e centrifugar em alta velocidade por 1 minuto (ou mais se necessário), remover o sobrenadante e repetir este procedimento mais duas vezes.

6) Preparar uma solução a 4% do receptor e uma do doador (0,2 mL do concentrado eritrócitos e 4,8 mL de solução salina).

7) Identificar 4 tubos de ensaio: Controle Doador (eritrócitos do doador + soro/ plasma do doador), *Major Crossmatch* – Doador x Receptor (eritrócitos do doador + soro/ plasma do receptor), *Minor Crossmatch* – Receptor x Doador (eritrócitos do receptor + soro/ plasma doador), Controle Receptor (eritrócitos do receptor + soro/ plasma do receptor).

8) Adicionar a cada um dos tubos, duas gotas do soro/ plasma e duas gotas da suspensão de eritrócitos, homogeneizar por agitação da parte inferior do tubo.

9) Centrifugar em baixa velocidade por 15-30 segundos, o suficiente para concentrar as células, mas não sedimentá-las totalmente.

10) Homogeneizar os tubos mais uma vez para ressuspender as células e observa-los contra a luz (avaliar aglutinação e/ou hemólise). Confirmar a aglutinação microscopicamente.

11) Se não foi observada aglutinação, deve-se incubar os tubos a 37°C por 30 minutos antes de centrifugá-los e reavaliá-los.

Programa de doadores

Todo banco de sangue veterinário deve ter um programa de doadores. O sangue pode ser obtido através de cães e gatos residentes ou voluntários (da equipe ou de proprietários). Em alguns países, com os avanços dos conceitos de bioética, a utilização de animais residentes não é permitida.

Quanto à seleção dos animais doadores

O doador canino ideal

O doador canino ideal deve ter idade entre 2 a 8 anos, aproximadamente, pesar acima de 28 kg (cães menores podem doar um volume menor), ter temperamento dócil e ser vacinado anualmente contra doenças infecciosas importantes na região, como raiva, cinomose, hepatite infecciosa, leptospirose, parvovirose e coronavirose. A maior parte dos cães não requer sedação ou anestesia, em alguns países, a utilização destas drogas não é permitida durante este procedimento (Abrams-Ogg, 2000, Schneider, 2000). Em cães, 15 a 20% do volume sanguíneo pode ser doado e calcula-se o volume sanguíneo estimado com a seguinte fórmula:

$$\text{Volume sanguíneo estimado (Litros)} = 0,08 - 0,09 \times \text{peso (kg)}$$

ou seja, o máximo a ser doado é 16 a 18 mL/kg. Os cães podem doar a cada 3 a 4 semanas, desde que recebam nutrição balanceada em quantidade adequada.

O doador felino ideal

O doador felino ideal deve ter idade entre 2 a 8 anos, aproximadamente, pesar acima de 4,5 kg (tamanho proporcional). Machos são mais procurados por serem maiores. O animal deve ser vacinado anualmente contra doenças infecciosas importantes na região, como FIV e FeLV, e devem ser negativos para PIF. A maior parte dos gatos geralmente é sedada ou anestesiada para a doação de sangue, portanto o comportamento do doador não é tão importante neste caso, mas ainda assim um temperamento dócil facilita o trabalho. Na Escola de Veterinária de Ontário (Canadá), utiliza-se uma combinação de drogas (butorfanol e acepromazina intramuscular associada a quetamina e diazepam intravenoso). Em felinos, 15 a 20% do volume sanguíneo pode ser doado e calcula-se o volume sanguíneo estimado com a seguinte fórmula:

$$\text{Volume sanguíneo estimado (Litros)} = 0,055 - 0,065 \times \text{peso (kg)}$$

ou seja, o máximo a ser doado é 11 a 13 mL/kg. Os felinos doadores podem doar a cada 2 a 3 semanas se o hematócrito estiver normal, mas nestes casos a dieta deve ser suplementada com ferro.

Quanto à avaliação dos animais doadores

Antes de cada doação, o histórico do doador deve ser averiguado, o animal deve ser submetido a um exame físico e a testes de controle laboratoriais. O animal não deve estar sob qualquer tratamento, não deve ter histórico de doença grave ou contato com carrapatos ou outros hospedeiros ou vetores de doenças, não deve ter recebido transfusão sanguínea e, no caso de fêmeas, não deve estar prenhe.

Quanto ao manejo dos animais doadores

Alguns cuidados devem ser tomados durante o procedimento, como procurar fazer a coleta quando o animal estiver em jejum de 12h (a lipemia pode aumentar a formação de rouleaux complicando o teste de compatibilidade e também pode causar ativação plaquetária), realizar

assepsia adequada antes do procedimento e pressão no local da venipunção após a doação durante 2 a 5 min para acelerar o processo de coagulação, observar o animal após a doação por 15 a 30 minutos (fraqueza, mucosas pálidas, pulso fraco e outros sinais de hipotensão), realizar soroterapia, se necessária, com solução salina ou soluções cristalóides similares para reposição do volume doado, dividindo as doses para não causar hemodiluição imediata. Procurar fazer com que o animal receba ração industrializada e água após a doação e recomendar ao proprietário que evite exercícios físicos intensos com o animal por alguns dias.

Quanto à doação

A veia jugular é o vaso sangüíneo de eleição para a coleta do sangue e o animal geralmente é colocado em decúbito lateral. Antes da doação aconselha-se palpar a veia e em seguida realizar a assepsia do local. Durante a doação, o bem-estar do doador deve ser constantemente monitorado (coloração das mucosas, pulso, freqüência respiratória). O comportamento também é um importante indicador de potenciais problemas que possam ocorrer durante o procedimento. A bolsa de sangue deve ser freqüentemente e cuidadosamente homogeneizada durante a doação para evitar a formação de coágulos e possibilitar a continuidade do procedimento. A doação dura em torno de 3 a 10 minutos com vácuo e 5 a 15 sem vácuo em cães, e aproximadamente de 3 a 5 minutos sem a utilização de vácuo em felinos. A hipotensão é um problema freqüentemente observado em gatos, portanto deve-se ter mais cuidado durante a coleta de sangue nesta espécie.

O sangue total e seus subprodutos

Transfusão é a palavra que define a terapia intravenosa com sangue total ou seus subprodutos. Há anos, a hemoterapia tem se baseado no uso de sangue total, e este ainda é o principal uso em medicina veterinária. Os subprodutos do sangue incluem seus componentes e derivados. Os componentes sangüíneos são seus subprodutos obtidos através de centrifugação, ou, menos comumente, através de aférese (equipamentos especializados que permitem a separação de apenas um componente do sangue do doador, devolvendo-lhe o restante). O uso dos componentes sangüíneos permite que mais de um paciente possa se beneficiar de apenas um doador e reduz os riscos de uma reação transfusional contra os outros componentes desnecessários, pois muitas vezes o paciente que requer uma transfusão precisa de apenas um componente sangüíneo específico.

Durante a última década houve um aumento do interesse pela medicina veterinária transfusional, acompanhado pelos avanços na oncologia veterinária e pela terapia intensiva, o aumento foi tanto que atualmente os componentes sangüíneos são rotineiramente preparados por certas instituições e empresas comerciais em alguns países da Europa e nos Estados Unidos. Os principais componentes sangüíneos são: concentrado de eritrócitos, plasma (e seus subtipos), concentrado de plaquetas e crioprecipitado.

Ambos, sangue total e seus componentes podem ser utilizados logo após a coleta (produtos frescos) ou após o armazenamento (produtos armazenados/estocados). Antes da II Guerra Mundial, o armazenamento de sangue não era muito utilizado na medicina humana. O doador era chamado conforme a necessidade, seu sangue era coletado e imediatamente transfundido, e isto ainda é muito comum na medicina veterinária. Entretanto, com a preparação de componentes sangüíneos, o interesse por bancos de sangue aumentou muito no passado recente. O armazenamento permite acesso imediato a sangue total e seus subprodutos, mas a coleta sangüínea e a preparação destes podem ser intensivamente trabalhosas e consomem bastante tempo, por isso a existência de um banco de sangue para clínicas/hospitais que realizam transfusões rotineiramente é essencial.

Os derivados sangüíneos são subprodutos protéicos preparados através de métodos bioquímicos (ex. extração por etanol) para processar grandes quantidades de plasma. Os derivados, que incluem soluções de albumina, imunoglobulinas intravenosa e concentrados de fatores específicos, têm tido um uso relativamente limitado na medicina veterinária comparado aos componentes sangüíneos.

Os substitutos sangüíneos, que são produzidos através de métodos biotecnológicos, incluem colóides artificiais, transportadores de oxigênio, substitutos de plaquetas e proteínas de coagulação humana produzidas através da tecnologia de DNA recombinante. Os dois primeiros substitutos têm sido utilizados na medicina veterinária. Atualmente existem diversas formas de preservar as células sangüíneas por um período determinado até o momento da transfusão, alguns exemplos são os processos de congelamento (criopreservação), a liofilização e, a mais comumente utilizada, a adição de soluções anticoagulantes como o CPDA1.

A seguir estão descritas, de forma resumida, algumas características do sangue total e seus subprodutos e suas principais indicações em medicina veterinária.

Sangue total e concentrado de eritrócitos

Sangue total

O sangue total pode ser fresco (quando utilizado logo após a transfusão) ou armazenado sob refrigeração (1-6 °C). A principal indicação é hemorragia aguda (anemia com hipovolemia). O volume a ser transfundido depende do volume de sangue perdido e na estimativa de perdas futuras. Em geral, entre 10 e 22 mL/kg, e o volume diário não deve exceder este valor, a menos que a perda seja muito severa. Solução salina hipertônica (7,5%), 4-5 mL/kg i.v. por 10 minutos deve ser considerada em casos de choque hemorrágico. A transfusão de sangue total pode ser feita para corrigir anemias conseqüentes de outras causas, mas o concentrado de eritrócitos é preferível nestes casos.

Concentrado de eritrócito

A centrifugação do sangue total é o método indicado para obtenção deste produto e sua armazenagem deve ser feita sob refrigeração (1-6°C). As principais indicações são anemia sem hipovolemia e anemia hemorrágica aguda com administração conjunta de plasma.

Observações importantes

Animais anêmicos e normovolêmicos não requerem que o sangue a ser transfundido seja reaquecido, de fato o aquecimento acelera a deterioração dos eritrócitos armazenados e pode permitir o crescimento de microorganismos contaminantes. Entretanto, no caso de pacientes hipotérmicos ou animais que necessitem um grande volume de sangue o produto deve ser reaquecido antes da transfusão. Pode-se deixar o produto a temperatura ambiente por 30 minutos, utilizar um banho-maria a 37°C por 15 minutos, utilizar equipamentos específicos que aquecem o sangue durante o procedimento, ou ainda adicionar solução salina aquecida (70°C) a uma unidade do produto refrigerada (4°C) em uma diluição de 1:1.

Plasma fresco congelado e produtos relacionados

Plasma

Este produto deve ser separado por centrifugação em até de 6 a 8 horas após a doação. Se o armazenamento é interrompido por mais de 30 minutos, deve-se utilizar dentro de 24 horas. O armazenamento deste produto depende do tipo de plasma, que pode ser líquido fresco (utilizado logo após sua obtenção), líquido refrigerado (1 a 6°C por 3 meses), fresco congelado (PFC: -30 a -18°C por 1 ano). Quando o produto foi separado acima de 6 horas após a doação e então congelado, ou quando o PFC expira sua validade de 1 ano, ele é chamado de plasma congelado (PC: -30 a -18°C por 5 anos). Não é recomendada a estocagem de sangue felino (ou de outra espécie animal) que tenha sido coletado através de seringa, devido à contaminação bacteriana. As principais indicações são: pressão oncótica plasmática reduzida (efusão pleural severa, edema pulmonar), pacientes sob anestesia em que exista risco de hipotensão ou alteração da ligação da droga com as proteínas, hemorragia devido à intoxicação por antagonistas da vitamina K, deficiência de vitamina K e hemofilia B. O armazenamento do plasma prejudica a manutenção de níveis adequados do fator VIII e do fator de von Willebrand.

Observações importantes

Todo plasma deve ser reaquecido somente antes da transfusão, utilizando um banho-maria entre 30 e 37°C por 20 a 30 minutos.

Crioprecipitado e produtos relacionados

Crioprecipitado

Este produto pode ser definido como um precipitado do plasma fresco congelado, e também é conhecido como fator antihemofílico crioprecipitado ou CRYO. Este produto contém 50% de fator VIII, 20% de fibrinogênio e porcentagens variadas dos fatores XIII, von Willebrand e

VIIIc (procoagulante). Este produto deve ser congelado (-30 a -18 °C) e é válido por até um ano após a data da doação. As principais indicações são: hemofilia A (incomum) e doença de von Willebrand (mais comum).

Criosobrenadante ou Crioprecipitado pobre

Este produto pode ser definido como o sobrenadante da preparação do crioprecipitado. Este produto deve ser congelado (-30 a -18 °C) e é válido por até 5 anos após a data da doação. Este produto contém albumina, fatores da coagulação exceto o fator de von Willebrand e o fator VIII, assim como, as imunoglobulinas. As principais indicações são: intoxicação por antagonistas da vitamina K, hemofilia B e hipoalbuminemia.

Cola ou selante de fibrina

O crioprecipitado também pode ser utilizado como fonte de fibrinogênio que pode ser adicionado à trombina para a produção de cola ou selante fibrina. Nos Estados Unidos, este produto já foi aprovado pelo FDA e é utilizado como agente hemostático e adesivo em diversos tipos de cirurgias.

Observações importantes

O crioprecipitado e o criosobrenadante devem ser reaquecidos antes da transfusão utilizando um banho-maria entre 30 e 37°C por 5 a 10 minutos. Após este procedimento, estes produtos podem ser deixados a temperatura ambiente (20 a 24°C) e devem ser transfundidos dentro de 6 horas.

Plasma rico em plaquetas e produtos relacionados

Plasma rico em plaquetas e concentrado de plaquetas

Estes compostos fazem parte dos chamados produtos plaquetários. O seu armazenamento é diferenciado dos produtos anteriormente descritos, pois deve passar por repouso por 1 hora seguido de agitação constante a temperatura ambiente (20 a 24°C) por 3 a 5 dias (já existem bolsas que permitem o armazenamento por até 7 dias em humanos). As principais indicações são: hemorragia por trombocitopenia e trombocitopatia. São eficazes em trombocitopenias causadas por redução da produção (leucemias, anemia aplásica). Menos eficazes nas causadas por aumento do consumo (coagulação intravascular disseminada), seqüestro (esplenomegalia) e destruição (trombocitopenia imunomediada).

Concentrado de plaquetas congelado

Nos Estados Unidos, o concentrado de plaquetas canino já pode ser obtido através de aférese (plaquetaférese) o que aumenta a concentração de plaquetas por unidade. Além disso, devido aos avanços na criopreservação (como a utilização de dimetil-sulfóxido e outras substâncias como crioprotetores), estes concentrados podem ser congelados a -20°C por até 6 meses.

A importância da adequada preservação do sangue

O desenvolvimento de meios e soluções de preservação sangüínea possibilitou o armazenamento dos eritrócitos e, conseqüentemente, o trabalho dos bancos de sangue. As maiores preocupações ao desenvolver tais soluções eram a manutenção dos níveis de glicose, adenosina trifosfato (ATP) e 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG), ou seja, a manutenção do metabolismo energético eritrocitário através da glicólise. Os eritrócitos possuem funções vitais no organismo como o tamponamento dos íons hidrogênio e o transporte de oxigênio e de dióxido de carbono, mas para a manutenção destas atividades é necessário energia sob a forma de ATP (adenosina trifosfato). A função do 2,3-DPG eritrocitário é se ligar a deoxihemoglobina e facilitar o transporte de oxigênio. Quando ocorre esta ligação, a molécula de deoxihemoglobina é estabilizada e esta interação a afinidade da hemoglobina pelo oxigênio e permite sua liberação para os tecidos. Portanto, uma diminuição de 2,3-DPG, que ocorre durante o armazenamento do sangue, interfere neste mecanismo, reduzindo a liberação de oxigênio.

O tempo de armazenamento depende da solução anticoagulante utilizada. O tempo de armazenamento para eritrócitos humanos em CPDA1 é de 35 dias, entretanto, o tempo máximo de armazenamento sugerido é de 20 dias utilizando-se a mesma solução para preservação de eritrócitos caninos. Este curto tempo de armazenagem dificulta e limita a quantidade de sangue canino que pode ser efetivamente armazenada e é uma desvantagem em particular para hospitais de pequenos animais onde o acesso a cães doadores pode ser difícil.

Novas soluções, a princípio, podem ser utilizadas efetivamente em outras espécies como a canina. Entretanto, o tempo de armazenamento deve ser determinado para cada espécie ao invés de utilizar os tempos preconizados para a espécie humana. Em bancos de sangue humanos, soluções salinas, glicosadas e com adenina, também conhecidas como soluções aditivas (exemplo: SAGM), são adicionadas diretamente ao concentrado de eritrócitos, após a centrifugação e remoção do plasma, e o objetivo de seu uso é prolongar o tempo de estocagem destas células por até 42 dias.

As soluções aditivas conhecidas por Adsol (Fenwall Laboratories) e Nutricel (Miles, Inc, Pharmaceutical Division, West Haven, CT) têm capacidade de prolongar o tempo de estocagem dos eritrócitos caninos, mantendo a viabilidade celular aceitável por até 37 e 35 dias respectivamente.

Em casos críticos, nos quais a liberação de oxigênio aos tecidos seja necessária, pode-se utilizar concentrado de eritrócitos ou sangue total desde que armazenados por um período menor do que duas e quatro semanas, respectivamente (assumindo que a estocagem seja realizada com as seguintes soluções: CPD, CPDA1, Adsol, Nutricel ou Optisol). Este fato não é tão importante em gatos, visto que esta espécie possui normalmente baixos níveis de 2,3-DPG. As soluções mais freqüentemente utilizadas atualmente para o armazenamento de sangue canino e felino são o CPD, CPD2 e o CPDA1.

As principais soluções anticoagulantes de preservação

A seguir estão descritas, de forma resumida, as principais soluções anticoagulantes de preservação utilizadas em medicina veterinária. Outros métodos, como a liofilização, criopreservação, e até mesmo outras soluções, ainda estão em desenvolvimento.

Heparina

Componente: Heparina 1000UI/mL.

Uso: 5 a 12,5 UI/mL de sangue.

Para emergências em gatos: colocar 300 a 750 UI (0,3 a 0,75 mL) em seringa de 60 mL.

Tempo máximo (T. máx.) de estocagem de sangue total: 2 dias (cães e gatos).

Comentários: Mais utilizada em gatos, não preserva eritrócitos, é a solução mais disponível em clínicas. Cuidar para não confundir com solução de 10.000 UI/mL (heparinização de receptores menores).

Citrato de sódio

Uso: solução de 3,8% para bolsa de 500 mL ou manipulado (1 mL de solução 3,8% para 9 mL de sangue ou 0,5 g para 100 mL de sangue).

Para emergências em gatos: 6 mL em uma seringa de 60 mL.

T. máx. de estocagem de sangue total: 5 dias (cães).

Comentários: Não preserva eritrócitos, obsoleto em pequenos animais, mas ainda muito usado para coleta de plasma em grandes.

CPD (Citrato fosfato dextrose) – ácido cítrico, citrato de sódio, fosfato e dextrose.

Uso: 0,14 mL para 1 mL de sangue.

Para emergências em gatos: 7,5 mL em uma seringa de 60 mL.

T. máx. de estocagem de sangue total: 4 semanas (cães, gatos).

Comentários: Não recomendado para estoque de concentrado de hemácias, bolsas com 63 mL para 450 mL de sangue e de 70 mL para 500 mL de sangue.

CPDA1 (Citrato fosfato dextrose adenina1) – ácido cítrico, citrato de sódio, fosfato e dextrose.

Uso: 0,14 mL para 1 mL de sangue.

Para emergências em gatos: 7,5 mL em uma seringa de 60 mL.

T. máx. de estocagem de sangue total: 5 semanas (cães, gatos).

T. máx. de estocagem de concenentrado de eritrócitos: 3 semanas (cães, gatos).

Comentários: bolsas com 63 mL para 450 mL de sangue e de 70 mL para 500 mL de sangue.

Soluções Aditivas: AS-1 (ADSOL), AS-3 (NUTRICEL) e AS-5 (OPTISOL) – dextrose, adenina, manitol e cloreto de sódio.

Uso: bolsas pré-fabricadas para 450 mL de sangue (bolsa primária com 63 mL de CPD/CPD2/ CPDA1 e bolsa satélite com 100 mL da solução aditiva).

Para emergências em gatos: 10 mL em uma seringa de 60 mL.

T. máx. de estocagem de sangue total: não aplicável

T. máx. de estocagem de concentrado de eritrócitos: 5-6 semanas (cães), 6 semanas (gatos).

Comentários: devem ser adicionadas aos eritrócitos dentro de 72 horas após a coleta.

Reações transfusionais

As reações transfusionais podem ser classificadas como imunológicas e não imunológicas e como agudas e tardias. As principais reações imunológicas e não-imunológicas estão listadas nas Tabelas 6 e 7. A ocorrência das reações transfusionais varia de 3 a 8% em cães e gatos, mas este índice tende a diminuir com o aumento do conhecimento e conseqüentes melhorias na medicina transfusional veterinária.

Tabela 5. Sinais não específicos que podem ocorrer durante uma reação transfusional imunológica aguda.

• Fraqueza, depressão, decúbito
• Tremores musculares, agitação, vocalização
• Polipnéia, dispnéia
• Taquicardia, bradicardia (felinos), arritmias, mucosas pálidas, pulso fraco (hipotensão)
• Parada cardiopulmonar (pode ser o único sinal presente durante a anestesia)
• Salivação (e outros sinais de náusea), vômitos, diarreia
• Micção
• Convulsões, coma
• Angioedema e urticária

Fonte: Abram-Ogg (2000).

Tabela 6. Reações transfusionais imunológicas.

<i>Aguda</i>	<i>Tardia</i>
• Hemólise	• Hemólise
• Hipersensibilidade aguda	• Púrpura pós-transfusional
• Sensibilidade a plaquetas	• Isoeritrolise neonatal
• Sensibilidade a leucócitos	• Imunossupressão

Fonte: Harrell e Kristensen (1995), Abrams-Ogg (2000)

Tabela 7. Reações transfusionais não-imunológicas.

<i>Aguda</i>	<i>Tardia</i>
<ul style="list-style-type: none">• Hemólise pré-transfusional dos eritrócitos do doador• Hipervolemia• Contaminação bacteriana• Toxicidade por citrato (hipocalcemia)• Coagulopatia e trombose• Hiperamonemia• Hipotermia• Hipofosfatemia• Hipercalemia• Embolismo por ar• Microembolismo pulmonar• Acidose	<ul style="list-style-type: none">• Transmissão de doença infecciosa• Hemosiderose

Fonte: Harrell e Kristensen (1995), Abrams-Ogg (2000).

A seguir estão descritas, de forma resumida, as principais reações imunológicas e seus sinais clínicos.

Incompatibilidade sangüínea (eritrocitária)

A patogênese das reações hemolíticas não será discutida aqui. Os sinais clínicos de uma crise hemolítica aguda incluem um ou mais sinais não específicos que estão relacionados na Tabela 5, juntamente com sinais específicos como hemoglobinúria e hemoglobinemia. Neste caso, hipertermia é comum, mas a urticária e o angioedema não. Insuficiência renal aguda e coagulação intravascular disseminada (CID) são seqüelas incomuns. A severidade da reação está diretamente relacionada com o número de eritrócitos destruídos. A reação hemolítica severa aguda em gatos é mediada por IgM e lembra uma reação anafilática, em cães é mediada por IgG. Na reação hemolítica tardia não há sinais clínicos agudos, mas o hematócrito reduz rapidamente em 3-5 dias após a transfusão (deveria durar 4 a 6 semanas). O tratamento pré-transfusional com antihistamínicos e corticosteróides não irão prevenir este tipo de reação.

Reações a proteínas plasmáticas

As reações imunológicas á proteínas plasmáticas (geralmente gamaglobulinas) são de natureza alérgica (mediadas por IgE) e resultam em urticária e angioedema, ou, raramente, anafilaxia. Podem ocorrer sinais como prurido, salivação, vômitos, diarréia e dispnéia (pela broncoconstrição), mas a hipertermia não é comum. O principal sinal da anafilaxia é a hipotensão, caracterizada por fraqueza, pulso fraco e palidez das mucosas. Nas reações alérgicas, existe perda de fluído e albumina da circulação, o que anula em parte o objetivo da transfusão. Em casos de reações severas, ascite, efusão pleural e edema pulmonar podem ocorrer.

As reações alérgicas, em geral, ocorrem em 1 a 15 min, mas podem ocorrer durante a transfusão, mesmo que não tenha ocorrido reação alguma com uma dose-teste. O risco desse tipo de reação aumenta com a taxa de transfusão, possivelmente porque algumas são anafilactóides. Cães e gatos, ao contrário de humanos, podem ser receber mais de uma transfusão de um mesmo doador, e isso pode aumentar o risco destas reações. Nos casos de animais que necessitem mais de uma transfusão, o uso de um novo doador para cada transfusão e o pré-tratamento com antihistamínicos, com ou sem corticosteróides, podem ser considerados, especialmente se há histórico de reações alérgicas. O tratamento pré-transfusional com antihistamínicos e corticosteróides deve ser utilizado se uma velocidade alta de transfusão é necessária, entretanto isto não garante que a reação não irá ocorrer. Se o paciente tem histórico de reação alérgica severa e requer concentrado de eritrócitos, os eritrócitos podem ser lavados com solução salina antes da transfusão.

Reações a leucócitos e plaquetas

Reações febris não-hemolíticas que ocorrem em cães e gatos após transfusões de sangue total ou de produtos plaquetários são presumivelmente devido à resposta imune do receptor a antígenos leucocitários do doador ou a substâncias bioativas. Hipertermia (algumas vezes acompanhada de tremores e vômitos) pode ocorrer durante a transfusão ou dentro de algumas horas após e pode levar até 12 horas se resolver. O tratamento pré-transfusional com antihistamínicos não previnem este tipo de reação. O pré-tratamento com corticosteróides (como a dexametasona) ou antiinflamatórios não-esteroidais (paracetamol somente em cães) 1 hora antes da transfusão pode auxiliar na prevenção de reações febris. A rotação de doadores também pode reduzir o risco destas reações. O uso de filtros leucocitários é uma opção, mas em vista do seu alto preço torna-se inviável na rotina veterinária, além disso, todos os métodos de remoção de leucócitos resultam em alguma perda de eritrócitos e plaquetas.

Trombocitopenia pós-transfusional pode ocorrer raramente em humanos e cães dentro de 1 a 2 semanas e dura até 2 meses. Nestes casos, a resposta imune é generalizada e os anticorpos do receptor atacam as próprias plaquetas, uma terapia imunossupressiva com prednisolona pode acelerar a recuperação.

Referências bibliográficas

- ABRAMS-OGG, A. C. G. Practical Blood Transfusion. In: DAY, M.; MACKIN, A.; LITTLEWOOD, J. *Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine*. 1 ed. Hampshire: British Small Animal Veterinary Association, cap.2, 2000, p.263-303.
- ANDREWS, G. A. Red blood cell antigens and blood groups in the dog and cat. In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. *Schalm's Veterinary Hematology*. 5 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000, p.767-773.
- ARIKAN. S.; DURU, S. Y.; GURKAN, M.; AGAOGLU, Z. T.; GIGER, U. Blood type A and B frequencies in Turkish Van and Angora cats in Turkey. *Journal of Veterinary Medicine Series A - Physiology Pathology Clinical Medicine*, Agosto, v.50, n.6, p.303-6, 2003.

- AUBUCHON, J. P. Evolution to the 21st Century. In: HILLYER, C. D.; SILBERSTEIN, L. E.; NESS, P. M.; ANDERSON, K. C.; ROUSH, K. S. (eds). *Blood Banking and Transfusion Medicine*. 1 ed. Philadelphia: Churchill Livingstone (Elsevier Science), 2003, p.3-7.
- AUER, L.; BELL, K. The AB blood group system of cats. *Animal Blood Groups and Biochemical Genetics*, v.12, n.4, p.287-97, 1981.
- BUCUR, S. Albumin, IVIG and Derivatives. In: HILLYER C. D.; SILBERSTEIN L. E.; NESS P. M.; ANDERSON, K. C.; ROUSH K. S. *Blood Banking and Transfusion Medicine*. 1 ed. Philadelphia: Churchill Livingstone (Elsevier Science), 2003, p.167-180.
- BULL, R. W. Inmunohematología. In: HALLIWELL, R. E. W.; GORMAN, N. T. *Inmunologia clinica veterinaria*, Zaragoza: Editorial Acribia S. A, 1992.
- CAMPBELL-LEE, S. A.; NESS, P. M. Packed RBCs and Related Products. In: HILLYER C. D.; SILBERSTEIN, L. E.; NESS, P. M.; ANDERSON K. C.; ROUSH, K. S. *Blood Banking and Transfusion Medicine*. 1 ed. Philadelphia: Churchill Livingstone (Elsevier Science). 2003, p.145-152.
- EJIMA, H.; KUROKAWA, K. Comparison test of antibodies for dog blood grouping. *Japanese Journal of Veterinary Science*, v.42, p.435-441, 1980.
- EYQUEM, A.; PODLIACHOUK, L.; MILOT, P. Blood groups in chimpanzees, horses, sheep, pigs and other mammals. *Annals of the New York Academy of Science*, v.97, p.320-328, 1962.
- GIGER, U. Blood typing and crossmatching to ensure compatible transfusions. *Kirk's Current Veterinary Therapy*, v.13, p.396-399, 2000.
- GIGER, U. et al. An acute hemolytic transfusion reaction caused by dog erythrocyte antigen 1.1 incompatibility in a previously sensitized dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v.206, n.9, p.1358-1362, 1995.
- GIGER, U.; BUCHELER J. Transfusion of type-A and type-B blood to cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, Fevereiro 1, v.198, n.3, p.411-8, 1991.
- GIGER, U.; BUCHELER, J.; PATTERSON, D. F. Frequency and inheritance of A and B blood types in feline breeds of the United States. *Journal of Heredity*, Janeiro-fevereiro, v.82, n.1, p.15-20, 1991a.
- GIGER, U.; GORMAN, N. T.; HUBLER, M.; LEIDINGER, J. I.; LEIDINGER, E. F.; LUBAS, G.; NIINI, T.; SLAPPENDEL, R. J. Frequencies of feline A and B blood types in Europe. *Proceedings of the International Society of Animal Genetics*, conferência 23, suplemento I, p.17-18, 1992.
- GIGER, U.; GRIOT-WENK, M.; BUCHELER, J.; SMITH, S.; DISERENS, D.; HALE, A.; PATTERSON, D. F. Geographical variation of the feline blood type frequencies in the United States. *Feline Practice*, v.19, p.21-27, 1991b.
- GIGER, U.; KILRAIN, C. G.; FILIPPICH, L. J.; BELL, K. Frequencies of feline blood groups in the United States. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, Novembro 1, v.195, n.9, p.1230-2, 1989
- GRIOT-WENK, M. E.; GIGER, U. The AB blood group system in wild felids. *Animal Genetics*, Abril, v.30, n.2, p.144-7, 1999.
- HALE, A. S. Canine blood groups and their importance in veterinary transfusion medicine. *The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v.25, n.6, p.1323-32, 1995.
- HARKEN, A. The surgical significance of the oxyhemoglobin dissociation curve. *Surgery Gynecology & Obstetrics*, v.144, p.935, 1977.
- HARRELL, K. A.; KRISTENSEN A. T. Canine transfusion reactions and their management. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v. 25, p. 1305-1322, 1995.
- HARVEY, J.W. Erythrocyte metabolism. In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. *Schalm's Veterinary Hematology*. 5 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000, p.767-773.
- HEATON, A.; MIRIPOL, J.; ASTER, R.; et al. Use of Adsol preservation for prolonged storage of low viscosity AS-1 red blood cells. *British Journal of Haematology*, v.57, p.467-478, 1984.
- HOGMAN, C. F. Aditive system approach in blood transfusion: Birth of the SAG and Sagman systems. *Vox Sanguinis*, v.51, p.339-340, 1986.

- HOGMAN, C. F. Liquid storage of human erythrocytes. In: HARRIS, J. R. *Blood Separation and Plasma Fractionation*. New York, Wiley-Liss, 1991, p.63–97.
- HOLMES, R. Blood groups of cats. *Journal of Physiology*, v.111, p.61, 1950.
- JAIN, N. C. *Essentials of veterinary hematology*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. 417 p.
- KNOTTENBELT, C. M. The feline AB blood group system and its importance in transfusion medicine. *Journal of Feline Medicine and Surgery*. Junho, v. 4, n. 2, p. 69-76, 2002.
- KNOTTENBELT, C. M.; ADDIE, D. D.; DAY, M. J.; MACKIN, A. J. Determination of the prevalence of feline blood types in the UK. *Journal of Small Animal Practice*, Março, v.40, n.3, p.115-118, 1999.
- KNOTTENBELT, C. M.; ADDIE, D. D.; DAY, M. J.; MACKIN, A. J. Determination of the prevalence of feline blood types in the UK. *Journal of Small Animal Practice*, v.40, p.115–118, 1999.
- LUBAS, G.; CONTINANZA, R. Recent advances in our understanding of the immunological characteristics of cats and their clinical application. *European Journal of Companion Animal Practice*, v.5, p.47-54, 1995.
- MELZER, K. J., WARDROP, K. J., HALE, A. S., WONG, V. M. A hemolytic transfusion reaction due to DEA 4 alloantibodies in a dog. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, Novembro-dezembro, v.17, n.6, p.931-3, 2003
- MOORE, D. J. The blood grouping systems of dogs. *Journal of the South African Veterinary Association*, v.47, p.282-284, 1976.
- NOVAIS, A. A. *Prevalência do grupo sanguíneo DEA 1 (subgrupos 1.1 e 1.2) em cães (Canis familiaris) (Linnaeus, 1758)*. Dissertação (Mestrado em Clínica Médica Veterinária) – Faculdade de Ciência Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual de São Paulo, Campus de Jaboticabal, 1996.
- NOVAIS, A. A. *Prevalência dos antígenos eritrocitários caninos em cães domésticos e investigação dos parâmetros hematológicos e da ocorrência de antígenos eritrocitários em lobos-guará e cachorros-do-mato*. Tese (Doutorado em Clínica Médica Veterinária) – Faculdade de Ciência Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual de São Paulo, Campus de Jaboticabal, 2003.
- NOVAIS, A. A.; SANTANA, A. E.; VICENTIN, L. A. Prevalence of DEA 1 canine blood group system in dogs (*Canis familiaris*, Linnaeus, 1758) reared in Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v.36, n.1/3, p.23-27, 1999.
- PRICE, G. S.; ARMSTRONG, P. J.; MCLEOD, D. A.; et al. Evaluation of citrate-phosphate-dextrose-adenine as a storage medium for packed canine erythrocytes. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v.2, p.126-132, 1988.
- SCHNEIDER, A. Principles of Blood Collection and Processing. In: FELDMAN, B. F., ZINKL, J. G., JAIN, N. C. *Schalm's Veterinary Hematology*, 5. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000, p. 827-832.
- SUZUKI, K. et al. New antibodies in dog blood groups. *Transplantation Proceedings*, v.7, n.3, p.365-367, 1975.
- SWISHER, S. N.; YOUNG, L. E. The blood grouping systems of dogs. *Physiological Reviews*, v.41, p.495-520, 1961.
- SYMONS, M.; BELL, K. Expansion of the canine A blood group system. *Animal Genetics*, v. 22, p. 227-235, 1991.
- VRISENDORP, H. M.; et al. Joint Report of the Second International Workshop on Canine Immunogenetics. *Transplantation Proceedings*, v.8, p.289-314, 1976.
- WAMSLEY, H. Canine and Feline Blood Groups, Crossmatching, Typing, and Transfusion. In: Alleman, A. R. *Small Animal Hematology Elective – VEM 5303*. Gainesville: University of Florida. 2003.
- WARDROP, K. J.; TUCKER, R. L.; MUGNAI, K. Evaluation of canine red blood cells stored in a saline, adenine, and glucose solution for 35 days. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v.11, n.1, p.5-8, 1997.
- WINSLOW, R. M. Blood Substitutes. In: HILLYER, C. D.; SILBERSTEIN, L. E.; NESS, P. M.; ANDERSON, K. C.; ROUSH, K. S. *Blood Banking and Transfusion Medicine*. 1 ed. Philadelphia: Churchill Livingstone (Elsevier Science), 2003, p.265-272.

OBESIDADE E DIABETES MELLITUS EM PEQUENOS ANIMAIS*

Angela Patricia Medeiros Veiga

Médica Veterinária, MSc
Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre, RS, Brasil
angela_veiga@ufrgs.br

Introdução

A obesidade é definida como um acúmulo de gordura em excesso ao que seria necessário para a otimização das funções corporais, sendo prejudicial à saúde e ao bem-estar do ser vivo. Esta condição, na espécie humana, vem mostrando um crescimento acelerado e preocupante. Da mesma forma o faz a obesidade em animais de companhia, em consequência da sobrecarga do fornecimento de carboidratos e gorduras, castração, sedentarismo e resistência à insulina, o que aumenta a susceptibilidade a várias enfermidades. Trata-se da desordem nutricional mais comum em cães de nações desenvolvidas.

Em condições normais, os animais controlam a quantidade de alimento ingerido, mas em consequência da alta palatabilidade e do desbalanço dos alimentos comerciais, a grande maioria dos animais ingere uma maior quantidade de alimento que seria necessário para as condições de manutenção.

Pesquisas mostram que 25% dos gatos e 40% dos cães apresentam sobrepeso (10-20% do peso ideal), percentual que pode chegar a 75% com a idade. Outros estudos detectaram uma taxa de obesidade em gatos de 23,1% e em cães, de 25,2%. Esta frequência demonstra a dificuldade de reconhecimento da condição e, em especial, sobre as formas de avaliá-la.

Com a obesidade, surgem complicações metabólicas que podem levar ao desenvolvimento de várias enfermidades, dentre as quais a mais comumente observada na clínica de pequenos animais é a diabetes mellitus.

Obesidade

Considera-se que, para animais de estimação, um aumento em 20% além do peso ideal corresponda à obesidade. O ganho de peso ocorre quando a energia adquirida através da ingestão excede a energia gasta pelo organismo, o que pode ser resultado da ingestão exacerbada, atividade física reduzida, taxa metabólica diminuída ou utilização mais eficiente de nutrientes. As causas da obesidade já foram bem documentadas, podendo ser de origem endócrina, farmacológica, genética e ambiental. Na fisiopatologia da obesidade desenvolve-se

* Veiga, A. (2005). Obesidade e Diabetes Mellitus em pequenos animais. In: González, FH.D., Santos, A.P. (eds.): *Anais do II Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil*. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. pp.82-91.

uma fase inicial de ganho de peso, devido ao consumo energético excessivo, seguido de uma fase de manutenção, em que se reduz o consumo, em virtude do controle hipotalâmico de consumo, em que parte do tecido adiposo promove um mecanismo inibitório sobre o apetite, causado pela alta quantidade de ácidos graxos de cadeia longa circulantes e altos níveis de insulina no líquido. Devido a esta inversão na razão gordura corporal:consumo, os proprietários assumem que o animal está ingerindo menor quantidade que deveria.

No desenvolvimento da obesidade juvenil, não só o tamanho dos adipócitos está alterado, mas também seu número, o qual permanece por toda a vida. Na obesidade adquirida do adulto, por outro lado, este efeito não se verifica, aumentando apenas o tamanho das células, o que torna o controle mais fácil. Porém, há pouco tempo se descobriu que os adipócitos não têm apenas o papel de armazenar triglicerídeos. Apresentam uma função endócrina, participando de rotas metabólicas que resultam no estado obeso, função esta relacionada às várias moléculas secretadas por eles, dentre as quais se destaca o fator de necrose tumoral (TNF)- α .

Embora não seja difícil de obter a identificação grosseira da obesidade, a investigação do seu grau é mais complexa, pois o peso corporal não é um bom índice para se avaliar a quantidade de gordura corporal quando utilizado isoladamente, já que pode estar relacionado com a quantidade de tecido muscular. Para esta avaliação existem vários parâmetros, porém a maioria, além de ter sido desenvolvida para humanos, demanda altos custos e, embora acurados, não são métodos fáceis e práticos. Atualmente tem-se utilizado a mensuração do índice de massa corporal (IMC) e a avaliação do escore de condição corporal como métodos práticos para acessar a obesidade em cães e gatos, apresentando boa correlação com métodos mais sofisticados, como a mensuração da absorção de raios X de energia dual (DEXA). O IMC baseia-se em mensurações físicas simples que podem ser usadas para estimar o conteúdo de massa adiposa em gatos. Este pode ser obtido a partir de duas medidas físicas, ambas realizadas com o animal em estação, com os membros perpendiculares ao chão e a cabeça na posição ereta. São elas: circunferência da caixa torácica (cm) ao nível da 9ª costela e medida do membro posterior esquerdo (cm) desde a patela até a tuberosidade calcânea. A percentagem de gordura corporal pode ser apreciada utilizando uma tabela ou calculada pela fórmula abaixo, a partir da qual um percentual maior que 30% indica obesidade, entre 10 e 30% indica peso ideal e abaixo de 10%, magreza:

$$\%gordura\ corporal = \left[\frac{\left(\frac{caixa\ torácica}{0,7067} \right) - med.\ membro}{0,9156} \right] - med.\ membro$$

Maxwell et al. (1999) sugerem a mensuração seriada de concentrações de IGF-I (fator de crescimento semelhante à insulina) como marcador do status nutricional em gatos adultos, uma vez que a rápida normalização de seus valores foi verificada durante a alimentação, após restrição nutricional, fornecendo dados mais precisos do que outros metabólitos, com albumina sérica, na monitoração da resposta do indivíduo a uma terapia nutricional.

Diabetes Mellitus

Definição

Tratando-se da doença endócrina mais comumente observada na clínica de pequenos animais, a diabetes mellitus consiste em uma desordem pancreática endócrina em que as células B, produtoras do hormônio insulina, por alguma razão deixam de secretá-lo ou diminuem sua secreção (diabetes tipo I), ou ocorre a chamada resistência periférica à insulina (diabetes tipo II). Modernamente tem se relatado a diabetes tipo III, induzida por drogas ou hormônios diabetogênicos (glucagon, adrenalina, glicocorticóides, ACTH, GH, tiroxina), e a tipo IV, que seria causada por uma resistência transitória à secreção de insulina causada pela pancreatite, principalmente em felinos obesos.

Obesidade e Diabetes Mellitus

Cães e gatos, além de divergentes física e morfológicamente, também o são em termos metabólicos, requerendo níveis diferenciados de proteínas, gorduras e carboidratos alimentares. Um manejo mal elaborado entre estes nutrientes pode causar sérios distúrbios metabólicos, dentre os quais a diabetes mellitus ocorre freqüentemente. Na Tabela 1 pode-se observar que nas duas espécies a obesidade é uma das principais causas incriminadas na etiologia da doença.

Tabela 1 - Etiologia comparativa da diabetes mellitus entre cães e gatos.

<i>Cães</i>	<i>Gatos</i>
Genética	Amiloidose
Insulinite imuno-mediada	Obesidade
Pancreatite	Infecção
Obesidade	Doença concomitante
Infecção	Drogas
Doença concomitante	Pancreatite
Drogas	Genética
Amiloidose	Insulinite imuno-mediada

Fonte: Zerbé (2001).

A obesidade é comum em gatos diabéticos, resultando do excessivo aporte calórico causado tipicamente da alimentação de livre escolha com ração seca felina. Ela causa resistência reversível à insulina, a qual resolve assim que a obesidade é curada, além de alterar a tolerância tecidual à glicose, ainda que não exista hiperglicemia. Appleton et al. (2001) verificaram que o desenvolvimento da obesidade em felinos foi acompanhado por um acréscimo de 52% na resistência tecidual à insulina e uma redução na efetividade da glicose. Isso muitas vezes torna a

avaliação clínica dificultosa, uma vez que não se sabe se o felino é insulino-dependente ou não. O animal obeso necessitará de maior aporte de insulina para se manter, o que, a médio e longo prazo, leva à exaustão das células β -pancreáticas. Além disso, leva à diminuição da translocação para a membrana plasmática do transportador GLUT4. Assim, parece plausível que o reconhecimento precoce da doença pode ajudar a impedir tal exaustão pancreática, já que a resistência a insulina foi demonstrada em gatos diabéticos, comparados a gatos normais, à semelhança do que ocorre em humanos. Mais importante foi o achado de que gatos magros com resistência à insulina apresentam maiores riscos de desenvolver intolerância à glicose ao ganhar peso.

Fisiopatogênese e sinais clínicos

Conhecendo-se as principais funções do hormônio insulina, hormônio hipoglicemiante, rapidamente imagina-se o que ocorreria na diminuição ou ausência da sua secreção, ou na impossibilidade de o hormônio atuar. A primeira reação do organismo frente a esta alteração é a elevação nos níveis sanguíneos de glicose, ao mesmo tempo em que ocorre um débito energético em praticamente todo organismo, já que a glicose, principal fonte de energia orgânica, permanece no líquido extracelular. Com esta alteração, rotas metabólicas de neoglicogênese são estimuladas, como uma tentativa de manter o aporte energético celular.

A presença de glicose no líquido intersticial aos poucos supera a capacidade de reabsorção tubular, levando a um efeito nefro-tubular osmótico, surgindo o primeiro sinal clínico: *poliúria* com *glicosúria* associada. Deve-se lembrar, porém, de se realizar a diferenciação entre outras enfermidades que cursam com glicosúria (hiperadrenocorticism, insuficiência renal, síndrome de Fanconi). O organismo, apesar de estar necessitando de energia, a tem perdida na urina. E, associado a este fator, a falta de energia celular ativa mecanismos hipotalâmicos, estimulando o centro da fome. É quando a *polifagia* se desenvolve. Porém, por maior que seja o conteúdo ingerido, com a falta de insulina ou de sua ação, a glicose permanecerá incapaz de penetrar no espaço intracelular, o que gera o *emagrecimento*, aliado ao catabolismo muscular e oxidação das reservas de gordura do organismo, que geram metabólitos como corpos cetônicos, elevando seus níveis no sangue e diminuindo o pH, causando a chamada *ceto-acidose diabética*.

Independente da osmolalidade do líquido intersticial há a perda hídrica, com desidratação inicial. Porém, a capacidade hipotalâmica ainda se conserva, e quando os osmoreceptores detectam o aumento de eletrólitos, principalmente sódio, no plasma, ativam mecanismos de regulação do conteúdo hídrico do organismo, estimulando o centro da sede. E é desta forma que surge mais um sinal clínico: a *polidipsia compensatória*.

Diagnóstico

A suspeita de que um animal apresente diabetes inicia com a observação dos sinais clínicos da doença: poliúria, polidipsia, polifagia e emagrecimento. Porém, para que se estabeleça o diagnóstico é necessário que seja demonstrada hiperglicemia de jejum persistente e glicosúria. Apenas uma demonstração de hiperglicemia não implica no diagnóstico definitivo, já que alterações metabólicas causadas pela administração de glicocorticóides ou outros hormônios hiperglicemiantes podem causar elevação nos níveis de glicose sanguínea, mesmo a liberação de cortisol endógeno e adrenalina no estresse da colheita é suficiente para determinar tal elevação. Muitas vezes é necessário estabelecer uma curva glicêmica, para que fique estabelecido o diagnóstico, podendo esta curva auxiliar na diferenciação entre os tipos de diabetes.

Além dos índices metabólicos previamente mencionados, existem outros testes que são de extremo auxílio na investigação:

- *Frutosamina*: consiste em proteínas glicosiladas que espelham a glicemia média nas últimas semanas, sendo um teste importante principalmente para felinos, já que não se altera com alterações induzidas pelo estresse.

- *Testes de função hepática*: ALT (alanina-aminotransferase), AST (aspartato-aminotransferase), FAS (fosfatase alcalina), entre outros, auxiliam a estabelecer a presença de dano hepático causado pelo metabolismo alterado presente na diabetes mellitus.

- *Colesterol e Triglicérides*: auxiliam a detectar dislipidemias, comuns na diabetes.

- *Corpos cetônicos*: a ceto-acidose diabética pode levar o animal à morte se não tratada emergencialmente. Detectar a sua elevação no sangue é imprescindível para avaliar o grau da enfermidade, além de ser um suporte para o tratamento e prognóstico.

- *Eletrolitos*: a diabetes causa um desbalanço hidro-eletrolítico. A acidose que ocorre em graus avançados leva ao deslocamento de potássio para o espaço extracelular, levando à hipercalemia.

- *Testes de função renal*: a desidratação e a redução do pH podem levar à azotemia pré-renal. A mensuração de uréia e creatinina séricas é fundamental para se avaliar o quadro clínico.

- *Urinálise*: além da já mencionada glicosúria, caracteriza a diabetes a cetonúria, densidade baixa e bacteriúria, além de outros achados inerentes às complicações induzidas pela diabetes, como infecções urinárias.

Tratamento da obesidade

O manejo efetivo da obesidade e sua prevenção dependem da aquisição de informações sobre a desordem, a partir das quais os fatores de riscos poderão ser identificados e minimizados.

Aporte calórico

O controle de peso depende da redução da ingestão calórica, seja pela redução do fornecimento diário, seja, em casos mais graves, pela introdução de dietas especiais. As recomendações para felinos determinam como requerimento energético 80 kcal/kg de PV, mas estas necessidades são aplicáveis apenas para animais em atividade. Mudanças no estilo de vida do felino nas últimas décadas levaram a alterações nas necessidades diárias de energia.

Deve-se objetivar uma perda de peso inicial de 15%, calculando-se o conteúdo calórico diário para cães a partir da fórmula $55 \times [\text{peso corporal inicial (kg)}^{0,75}]$, e para gatos a partir da fórmula $30 \times [\text{peso corporal inicial (kg)}]$. Outros autores relacionam o grau de atividade dos gatos às fórmulas $70 \times [\text{peso corporal inicial (kg)}]$ para animais ativos e $50 \times [\text{peso corporal inicial (kg)}]$ para animais inativos. Com este fornecimento, os cães devem atingir a redução de peso em 6 semanas e os gatos, em 18 semanas. Outra fórmula, com base nos requerimentos energéticos para manutenção, tem sido utilizada, relacionando-se ao peso alvo: $144 + 62,2 (\text{peso corporal alvo em kg})$ kcal/dia. Todavia, a restrição calórica só deve acontecer em animais acima do peso. Animais abaixo do peso devem ser alimentados com dietas inicialmente energéticas e, à medida que ganharem peso oferece-se um alimento com restrição de energia.

Os animais devem ser reavaliados a cada duas semanas, verificando-se se o objetivo de perda de peso está sendo alcançado, Observa-se a perda de peso semanal, que deve estar em torno de 1-2%. Caso esta perda seja maior, o aporte calórico deve aumentar em 10-15%; se não houve perda, deve-se reduzir adicionais 10-15% no aporte calórico, além da quantidade já restringida. Estudos demonstraram que, assim como humanos, cães apresentam um efeito rebote, ganhando peso após um programa de regime, proporcionalmente à perda de peso e restrição calórica prévia. Isto é sugerido no estudo de Donoghue & Scarlett (1998), onde se re-avaliaram 1654 gatos previamente submetidos a programas de emagrecimento. Naquele estudo, a perda de peso foi reportada apenas em 30% dos animais sobrepeso e 40% dos obesos. Portanto, uma vez alcançado o peso ideal, este deve ser mantido, através do aporte calórico ajustado para tal propósito. No estudo citado acima, concluiu-se que na perda semanal de 1,14% do peso, os animais foram capazes de manter o peso alvo ou continuar a perder peso, recomendando-se a perda gradual de peso.

A redução de peso melhora a tolerância à glicose, provavelmente devido à melhora da resistência insulínica induzida pela obesidade. Geralmente a redução de peso efetiva requer a combinação da restrição calórica, por exemplo, pelo aumento no teor de fibras, com a melhora do gasto calórico, através do exercício. Além da redução calórica, o manejo dietético inclui uma modificação na frequência de ingestão diária. Animais que são alimentados uma vez ao dia são mais predispostos à obesidade do que aqueles alimentados várias vezes com pequenas quantidades. Isto ocorre porque o aumento na frequência alimentar leva à perda energética através da termogênese. Os objetivos principais da terapia dietética no manejo de animais

diabéticos são minimizar o impacto da refeição na hiperglicemia pós-prandial, corrigir e/ou prevenir a obesidade. Estes efeitos têm sido alcançados em 4 meses após o início do tratamento dietético.

Desde os primórdios da evolução, os felinos têm se diferenciado dos caninos por serem carnívoros obrigatórios. Além de demonstrarem menor atividade das enzimas que digerem carboidratos no trato gastro-intestinal, apresentam menor taxa de incorporação da glicose até glicogênio e tempo mais longo de eliminação da glicose sanguínea no teste de tolerância à glicose. Com isso torna-se clara a fraca adaptação destes animais para metabolizar grandes cargas de carboidratos. A principal preocupação é que as dietas comerciais para felinos contêm uma alta carga de amido, estimulando o aumento nas taxas de glicose e frutossamina sanguíneas.

Carboidratos versus gordura

Dietas ricas em carboidratos, por induzir hiperinsulinemia pós-prandial, têm sido associadas a superestimulação das células beta-pancreáticas até sua exaustão e, com isso, diabetes mellitus. Além disso, tais dietas estimulam um maior consumo diário em comparação a dietas ricas em proteínas e gorduras, o que predispõe à obesidade, sem mencionar que se aproximam mais da alimentação original de cães e gatos. Rand et al. (2003) associaram uma dieta com altos níveis de carboidratos (47%) a maiores picos de glicemia pós-prandial do que a com níveis moderados (27%), em gatos saudáveis. Quando se utilizou uma dieta com baixos teores de carboidratos (6,5%), a dose de insulina administrada em gatos diabéticos foi reduzida e, em alguns casos, eliminada. Considerando-se a fonte de carboidratos, porém, demonstrou-se que o arroz estimula maior ingestão calórica e ganho de peso, além de induzir maiores concentrações de glicose e secreção de insulina pós-prandial, comparando-se ao milho ou sorgo.

Por outro lado, Thiess et al. (2004) observaram altos níveis séricos de triglicerídeos, ácidos graxos livres (AGL), beta-hidroxibutirato e colesterol, induzidos por dietas ricas em gordura, já que estes metabólitos inibem a ação da insulina. Naquele estudo, concluiu-se que os gatos podem digerir eficientemente certas fontes de carboidratos. Pelo contrário, comparada com a dieta rica em carboidratos, a rica em gordura levou a uma menor resposta inicial de insulina, o que poderia indicar tanto uma capacidade beta-celular diminuída ou um efeito estimulatório diminuído da glicose sobre a secreção de insulina, corroborando com alguns estudos que determinam que se devem restringir gorduras, fornecendo um teor menor que 20% no valor energético, para reduzir a cetonemia.

Dietas com baixos teores de gordura minimizam o risco de pancreatite, ajudam a reduzir o aporte calórico total para ocasionar a perda ou a manutenção de peso e controlam a hiperlipidemia. A hiperlipidemia com elevação de AGL na circulação inibe o metabolismo da glicose via ciclo ácido graxo/glicose. O aumento de AGL induz beta-oxidação com aumento de produção de acetil-CoA. Isto leva à inibição da piruvato desidrogenase e oxidação do piruvato. Ao mesmo tempo, o aumento de citrato e ATP inibem a fosfofrutoquinase e a glicólise,

resultando em acúmulo de G-6-P. Esta, por sua vez, leva à inibição da atividade da hexoquinase, com redução da captação e fosforilação da glicose.

O efeito dos ácidos graxos sobre a secreção de insulina é variável. A elevação na secreção de insulina é estimulada por ácidos graxos de cadeia longa, e inibida diretamente com o grau de saturação. Os ácidos graxos poli-insaturados (PUFA) são benéficos no tratamento e prevenção da obesidade e diabetes mellitus. Além de inibir a produção de mediadores pró-inflamatórios, que são produzidos na obesidade, aumentam o número de receptores de insulina em vários tecidos e melhoram as ações da insulina. A suplementação de ω -3 em ratos obesos proporcionou menor ganho de peso, quando comparados aos controles, levando à conclusão de que o ω -3 apresenta um papel fundamental na prevenção da obesidade (Das, 2001). Estas substâncias também estão implicadas na redução da resistência à insulina em humanos por reduzirem a razão insulina:glicose de jejum e aumentar as taxas de *clearance* de glicose. O mecanismo sugerido pelo qual a suplementação com n-3 PUFA afetaria a sensibilidade à insulina é através da incorporação em membranas celulares e aumentando a sua fluidez, porém, em cães este efeito não foi verificado. A adição de ω -3 na dieta de cães deve ser acompanhada, todavia, pela adição de ω -6, em uma relação de 5:1 até 10:1 ω -6/ ω -3.

Fibras

Atualmente concorda-se que, para cães diabéticos, deve ser oferecida uma dieta rica em carboidratos complexos, como fibra alimentar e amido compondo 45-60% da energia metabolizável. A fibra complexa apresenta uma digestão mais prolongada, permanecendo no trato gastrointestinal por mais tempo e diminuindo a oscilação na hiperglicemia pós-prandial por retardar a absorção de outros nutrientes, além de apresentar um efeito sobre a liberação dos hormônios do TGI na circulação. Estudos demonstraram que fibras altamente fermentáveis melhoram a homeostase da glicose em cães saudáveis, sendo preferível a inclusão de níveis normais de fibras moderadamente fermentáveis a níveis altos de fibra não-fermentável como a celulose.

Adicionalmente, o tipo de fibra consumido influencia a melhora no controle glicêmico. De acordo com sua solubilidade na água, dois tipos de fibras são reconhecidos: fibra solúvel (goma, pectina) e fibra insolúvel (celulose, lignina). A maioria dos estudos demonstra que o consumo de fibra solúvel é mais efetiva no controle glicêmico de cães, porém outros, utilizando cães diabéticos, concluem que a fibra insolúvel foi mais eficaz. Este tipo de fibra constitui a composição da maioria das dietas comerciais para obesidade / diabetes. Estudos recentes, por sua vez não detectam benefício de dietas baseadas em alto conteúdo fibroso sobre as de conteúdo moderado em cães e gatos. Além disso, o seu consumo pode levar a complicações, como diarreia, flatulência, hipoglicemia 1 a 2 semanas após sua inclusão na dieta e recusa do animal em se alimentar. Devido a estes fatores, e pelo seu baixo teor calórico, o que pode influenciar no ganho de peso, não se estimula o fornecimento para cães diabéticos caquéticos.

Proteínas

Existem muitas controversas em relação ao aporte protéico em dietas de humanos diabéticos. O consumo excessivo de proteínas, principalmente se associado a altos níveis de sódio e potássio, podem contribuir para o desenvolvimento da nefropatia diabética, enquanto o consumo de baixos níveis pode evitar esta complicação. Originalmente cães e gatos caçavam presas, cuja composição era em torno de 42% de proteína e 55% de gordura, portanto seu metabolismo está adequado a digerir dietas com esta composição. Vários estudos demonstram que, diferente do que ocorre com humanos, altas doses protéicas não são responsáveis pela origem e progressão de distúrbios renais em cães, ainda que já houvesse um grau de lesão neste órgão. As proteínas são necessárias em todos os processos metabólicos, portanto não devem estar ausentes, porém, quantidades moderadas (14-30%) são adequadas.

Gannon et al. (2001) comprovaram que as proteínas alimentares não induzem um aumento nas concentrações de glicose circulante, ao contrário, melhoram a taxa de desaparecimento sangüíneo da glicose em humanos acometidos por diabetes mellitus tipo 2, diferente do que se pensava, já que as proteínas estimulariam a neoglicogênese. Além disso, produzem uma redução nos níveis de ácidos graxos não-esterificados. Estes dados estão de acordo com estudos em felinos, os quais demonstraram que a restrição de carboidratos e inclusão de altos níveis protéicos, associada ou não a um inibidor da α -glicosidase, reduziu os níveis plasmáticos de glicose e frutamina, além da redução no percentual de gordura corporal, o que foi verificado com maior significância em gatos obesos do que em magros.

Referências bibliográficas

- ALLAN, F. J.; et al. A cross-sectional study of risk factors for obesity in cats in New Zealand. *Preventive Veterinary Medicine*, v. 46, p. 183-96, 2000.
- ANNUZZI, G.; et al. A controlled study on the effects of n-3 fatty acids on lipid and glucose metabolism in non-independent diabetic patients. *Atherosclerosis*, v. 87, p. 65-73, 1991.
- APPLETON, D. J.; RAND, J. S.; SUNVOLD, G. D. Insulin sensitivity decreases with obesity, and lean cats with low insulin sensitivity are at great risk of glucose intolerance with weight gain. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, v.3, p. 211-228, 2001.
- APPLETON, D. J.; et al. Dietary carbohydrate source affects glucose concentrations, insulin secretion, and food intake in overweight cats. *Nutrition Research*, n. 24, p. 447-67, 2004.
- BARSANTI, J. A.; FINCO, D. R. Dietary management of chronic renal failure in dogs. *Journal of America Hospital Association*, v. 21, p. 371-6, 1985.
- BRENNAN, C. L. et al. GLUT4 but not GLUT1 expression decreases early in the development of feline obesity. *Domestic Animal Endocrinology*, v. 26, p. 291-301, 2004.
- BUTTERWICK, R. How fat is that cat? *Journal of Feline Medicine and Surgery*, v. 2, p. 91-4, 2000.
- DONOGHUE, S.; SCARLETT, J. M. Diet and feline Obesity. *Journal of Nutrition*, v. 128, p. 2776S-2778S, 1998.
- FELDHahn, J. R.; et al. Insulin sensitivity in normal and diabetic cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, n. 1, p. 107-15, 1999.
- GANNON, M. C.; et al. Effect of protein ingestion on the glucose appearance rate in people with type 2 diabetes. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, v. 86, n. 3, p. 1040-7, 2001.

- HABER, E. P.; et al. Secreção da insulina: efeito autócrino da insulina e modulação por ácidos graxos. *Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabolismo*, v. 45, n. 3, p. 219-26, 2001.
- HANSEN, B.; et al. Clinical and metabolic findings in dogs with chronic renal disease fed two diets. *American Journal of Veterinary Research*, v. 53, p. 326-34, 1992.
- IRVINE, A. J.; et al. Dietary supplementation with (n-3) polyunsaturated fatty acids does not affect insulin sensitivity in healthy Labrador Retriever dogs. **Journal of Nutrition**, v. 132, p. 1709S-1710S, 2002.
- LAFLAMME, D. P.; KUHLMAN, G. The effect of weight loss regimen on subsequent weight maintenance in dogs. *Nutrition Research*, v. 15, n. 7, p. 1019-28, 1995.
- MARTIN, G.; RAND, J. Current understanding of feline diabetes: part 2, treatment. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, v. 2, p. 3-17, 2000.
- MASKELL, I. E.; GRAHAM, P. A. Endocrine Disorders. In: WLLS, J.M.; SIMPSON, K.W. *The Waltham Book of Clinical Nutrition of the Dog and Cat*. Great Britain: Butler & Tanner, 1994.
- MASSIMINO, S. P. et al. Fermentable dietary fiber increases GLP-1 secretion and improves glucose homeostasis despite increased intestinal glucose transport capacity in healthy dogs. *American Society for nutritional Sciences*, p. 1786 – 1796, 1998.
- MAXWELL, A.; et al. Serum Insulin-like growth factor (IGF)-I concentrations are reduced by short-term dietary restriction and restored by refeeding in domestic cats (*Felis catus*). *American Society for Nutritional Metabolism*, p. 1879-84, 1999.
- MAZZAFERRO, E. M.; GRECO, D. S.; TURNER, A. S.; et al. Treatment of feline diabetes mellitus using an α -glucosidase inhibitor and a low-carbohydrate diet. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, v. 5, p. 183-189, 2003.
- MILLER, C.; ET AL. Tumor necrosis factor- α levels in adipose tissue of lean and obese cats. *American Society for Nutritional Sciences*, v. 128, p. 2751S-2752S, 1998,
- NELSON, R. W.; COUTO, C. G. *Fundamentos de Medicina Interna de Pequenos Animais*. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1994.
- PÖPPL, A. *Diabetes Mellitus canina*. Monografia de conclusão de curso. Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004. 104p.
- RAND, J. S.; et al. Diet in the prevention of diabetes and obesity in companion animals. **Asian Pacific Journal of Clinical Nutrition**, n. 12, suppl. S6, 2003.
- ROBERTSON, I. D. The association of exercise, diet and other factors with owned-perceived obesity in privately owned dogs from metropolitan Perth, WA. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 58, p. 75-83, 2003.
- SAAD, F. M. O. B. Programas de redução de peso para cães e gatos. **IV Simpósio sobre Nutrição de Animais de Estimação**. São Paulo: CBNA, p. 1-48, 2004.
- SCARLETT, J. M. et al. Overweight cats: prevalence and risk factors. **Internal Journal of Obesity**, v. 18, p. 178-82, 1994.
- SIMÕES, D. M. N. Manejo alimentar de cães e gatos diabéticos. **IV Simpósio sobre Nutrição de Animais de Estimação**. São Paulo: CBNA, p. 1-48, 2004.
- TETRICK, M. A. Dietary management of gastrointestinal issues and obesity in dogs and cats: clinical studies. **WSAVA**, p. 32-36, 2003.
- ZERBÉ, C. A. Proceedings of ESFM symposium at BSAVA Congress, 2001: What is so special about feline diabetes mellitus? **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 3, p. 99-103, 2001.