



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

WESLEM GARCIA SUHETT

**DETERMINAÇÃO DE BIOMARCADORES CARDÍACOS E
INFLAMATÓRIOS EM CÃES COM DIFERENTES GRAUS DE
ANEMIA NATURALMENTE ADQUIRIDAS**

WESLEM GARCIA SUHETT

**DETERMINAÇÃO DE BIOMARCADORES CARDÍACOS E
INFLAMATÓRIOS EM CÃES COM DIFERENTES GRAUS DE
ANEMIA NATURALMENTE ADQUIRIDAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Patrícia Mendes Pereira

Londrina
2015

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da
Universidade Estadual de Londrina**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

S947d Suhett, Weslem Garcia.

Determinação de biomarcadores cardíacos e inflamatórios em cães com diferentes graus de anemia naturalmente adquiridas / Weslem Garcia Suhett. – Londrina, 2015.
94 f. : il.

Orientador: Patrícia Mendes Pereira.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, 2015. Inclui bibliografia.

1. Cão – Doenças – Teses. 2. Cão – Anemia – Teses. 3. Coração – Marcadores biológicos – Teses. 4. Inflamação – Teses. 5. Cardiologia veterinária – Teses. I. Pereira, Patrícia Mendes. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. III. Título.

CDU 619:636.7

WESLEM GARCIA SUHETT

**DETERMINAÇÃO DE BIOMARCADORES CARDÍACOS E
INFLAMATÓRIOS EM CÃES COM DIFERENTES GRAUS DE
ANEMIA NATURALMENTE ADQUIRIDAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Prof^a Dr^a Patrícia Mendes Pereira
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof^a Dr^a Danielle Venturini
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof^a Dr^a Karina Preising Aptekamann
Universidade Federal do Espírito Santo - UFES

Londrina, 31 de Março de 2015.

Este trabalho é dedicado primeiramente a Deus quem me fortaleceu, a cada amigo de quatro patas que me motivou a aprender e aos amores de minha vida que fizeram tudo ter sentido.

AGRADECIMENTOS

Ao elaborar essas palavras muitas pessoas vieram a minha lembrança, momentos e situação que foram fundamentais para que hoje eu estivesse aqui. Não tenho como, em simples palavras, em poucas páginas e neste momento agradecer a cada um por isso, então inicio agradecendo a você que sabe que de alguma forma fez parte de minha vida.

Entre todas e tudo o meu maior agradecimento é a Deus e seu filho Jesus Cristo que além de me salvar, foi meu refúgio, minha fortaleza, foi quem me trouxe consolo nos momentos de tristeza, foi quem esteve nos momentos de alegrias, foi com quem sempre pude contar.

Agradeço também com um carinho gigante a minha família que sempre foi minha maior apoiadora em cada sorriso, em cada palavra de orgulho, me ensinando a cada dia o significado da palavra amor. Em especial não poderia deixar de agradecer pessoas fundamentais para esse sucesso como minha Mãe Doriza, meu Pai Idelson e meu irmão e cunhada Wevison e Dayanne muito obrigado por suas preocupações, apoio, orações e sobretudo amor.

Quando se fala em famílias existem sempre aqueles que nos inspiram com sua sabedoria de vida, por isso dedico estas simples palavras a vocês meus queridos avós Wilson e Druzila e Ananias e Fany, que mesmo sem entender o que faço sempre falam com orgulho do neto com frases como “Quantos diplomas você já tem meu filho? Tem que colocar na parede para todo mundo ver que você é importante”, onde na realidade importante são vocês por construírem famílias honradas.

Poderia parar por aqui, pois nada disso seria real sem uma pessoa em minha vida que chegou como presente de Deus e se tornou fundamental nos meus dias, da mesma forma que comida e água, sim amor é essencial e por isso que agradeço a você Laís que soube tornar os dias longe da família mais brandos, que soube me modelar, reforçar meus melhores comportamentos, que me fez entender meus defeitos, que foi sempre a pessoa a qual corria quando precisava.

Agradeço a minha orientadora não só pela constante orientação neste trabalho, mas sobretudo pela sua amizade. Hoje entendo que a história acadêmica é outra vida, onde encontramos mães, pais, irmãos, amigos como se diz científicos. Por isso decidi conduzir estes agradecimentos em uma ordem cronológica portanto posteriormente retorno com minha orientadora genial Patrícia Mendes Pereira.

Hoje cada sílaba que se forma, cada palavra lida deve-se a uma fase muito importante de nossa formação que é o ensino fundamental, onde com certeza foi formado meu caráter, pois foi onde aprendi a ser forte, enfrentar os meus medos, a sonhar alto, a entender que todo bullying era por inveja e isso só foi possível graças a uma grande profissional Tia Sonimar.

Como tudo passa, o tempo passou e o ensino médio chegou e com ele veio uma paixão pelas áreas biológicas, tudo me encantava, mas sem entender meu destino o reino animal era o que mais gostava e foi a querida Juliana Meneguelli a responsável por isso.

Assim tentando escrever minha história com erros e acertos foram-se uma, duas e três faculdades, até me encontrar como profissional, amar o que faço e essa descoberta se veio através da pessoa que foi aluna e professora, a mãezona Lenir Cardoso, que me introduziu na vida acadêmica, minha primeira orientadora, meu primeiro painel e resumo em congresso obrigado.

Agora já sabia o que me dava alegria, mas veterinária é tão vasta que me via perdido, até encontrar você Karina que recém chegada me acolheu me ensinou a amar clínica médica, se tornou minha eterna mãe científica, minha orientadora um exemplo a seguir por isso sempre em todos os momentos agradeço não só seus ensinamentos, a sua amizade e carinho.

E hoje o degrau do mestrado não seria possível sem os momentos vividos na residência, período difícil, de descobertas, de aprendizado, mas período onde nasceu uma pessoa que tenho como irmão científico, aquele que foi meu orientador, amigo, que aprendeu comigo e colega de residência Leandro Yamamoto, obrigado por cada momento que vivemos juntos.

Agora sim neste momento de mistura de sentimentos, alegria, ansiedade, medo, realização, orgulho, incerteza não poderia deixar de prestar uma homenagem, pois é mais que um simples agradecimento o sentimento que tenho pela professora Patrícia, pois foi você quem me trouxe a realidade, que deu um norte a seguir, em cada correção, em cada crítica tirei o melhor e minha maior alegria foi receber seu elogio quanto ao meu crescimento, fruto de seus conselhos. Em vários momentos nossas opiniões divergiram e acredito que tudo que passamos faz parte do processo de aprendizado da vida acadêmica, e com certeza o mais importante que aprendi com você é o amor pelos animais, a luta pelo extensionismo na vida acadêmica e a força de vontade em realizar um sonho e fazê-lo dar certo através do Projeto Vida.

Como não agradecer a cada pessoa que fez parte desse Projeto lindo, não tenho como mencionar todos mas espero que sintam-se agradecidos por tudo que fizeram por mim e por todas as vidas que foram salvas, mas nesse período algumas se tornaram importantes e gostaria de agradecer a minha primeira dupla Ádama quem me ensinou tudo, a Sabrina que mesmo com mil coisas sempre tinha vontade e disposição em ajudar, ao Patrick e ao Victor que diretamente fizeram parte desse Estudo. E por fim agradecer Laís, Bárbara e Marina pelas horas juntos em cada transfusão.

Não poderia deixar de agradecer ao laboratório clínico veterinário do HV-UEL que foi apoio fundamental para conclusão deste mestrado, assim através das professoras Mara e Karina agradeço a cada funcionário, cada estagiário, cada residente que de alguma forma me ajudaram, mesmo que seja tendo paciência ao levar uma reação cruzada.

Agradeço também através dos professores Jair e Danielle toda equipe do Laboratório de Bioquímica e através da professora Helena toda equipe do Laboratório de Imunologia do Hospital Universitário da UEL, que com muita prontidão, educação e carinho abriram as portas para que tudo se tornasse possível.

Agradeço a todos os professores, pós-graduandos, funcionários, residentes e estagiários que diretamente ou indiretamente me ajudaram. Em nome dos funcionários agradeço as enfermeiras Neuza, Rose e Vilma que sempre foram um suporte, em nome dos professores agradeço a professora Silvia que foi uma grande amiga e ao professor Lucas. Em nome dos residentes não poderia deixar de mencionar aqueles que em pouco tempo se tornaram mais chegados que irmãos, amigos para sempre Fernanda, Mariah e Valdair.

Por fim, mas não menos importante gostaria de dedicar este último parágrafo a um ser que não sabe ler, conhece meus sentimentos melhor que todos, me acorda com uma lambida de bom dia, que me afaga quando estou triste e se diverte comigo quando estou alegre, a minha filha de quatro patas e pêlos, a razão por querer sempre aprender mais para poder cuidar dessa jóia que tanto amo, Nuit.

“Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades, lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram conquistadas do que parecia impossível.”

Charles Chaplin

SUHETT, Weslem Garcia. **Determinação de biomarcadores cardíacos e inflamatórios em cães com diferentes graus de anemia naturalmente adquiridas**. 2015. 94 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2015.

RESUMO

A anemia é uma alteração clínica comum que pode causar disfunção cardiovascular, risco de insuficiência cardíaca congestiva e consequente aumento da mortalidade. Na maioria das vezes, a anemia não é uma doença primária, mas sim uma consequência de um estado patológico. Podem-se dividir as causas da anemia em três: perda sanguínea, hemólise e redução da produção de hemácias. As alterações clínicas geralmente estão relacionadas à menor oxigenação dos tecidos ou aos mecanismos compensatórios associados. A mensuração de biomarcadores de lesão miocárdica tais como a troponina I cardíaca, mioglobina, creatina fosfoquinase (CK) e lactato tem sido empregada, principalmente no homem, para avaliar precocemente lesões, mesmo antes de causarem alterações em outros exames cardíacos, sobretudo relacionadas à hipóxia e isquemia. Assim, este trabalho objetivou a verificar a presença de lesão cardíaca através de biomarcadores cardíacos e alteração eletrocardiográfica em cães com diferentes tipos de anemias naturalmente adquiridas. Também visou estabelecer o envolvimento do processo inflamatório como um indicador de severidade do quadro anêmico. Deste modo foram avaliados 108 cães anêmicos em diversos graus de intensidade, acometidos por diferentes enfermidades e 30 cães saudáveis, sendo estes utilizados como grupo controle. Os animais foram submetidos à avaliação laboratorial (hemograma e bioquímica), avaliação eletrocardiográfica e aferição da pressão arterial. O eletrocardiograma evidenciou que 34,05% (47/138) dos animais apresentaram uma ou mais alterações possíveis de serem encontradas nos casos de hipóxia. Entre os biomarcadores cardíacos, obteve-se diferença significativa com relação a severidade da anemia na avaliação de CK ($p=0,003$) sendo que seus valores mantiveram-se dentro dos níveis de referência para a espécie e troponina I cardíaca ($p<0,001$), enquanto mioglobina ($p=0,248$) e CKMB ($p=0,211$) não demonstraram diferenças significativas entre os grupos. A troponina I evidenciou valores maiores à medida que o volume globular reduzia, assim, a mediana do grupo de anemia muito grave foi 0,385 ng/mL, bem acima do grupo controle que apresentou mediana 0,04 ng/mL ($p<0,001$). Na avaliação do processo inflamatório por meio da concentração sérica da proteína C reativa (PCR), observou-se que o aumento de suas concentrações foi inversamente proporcional aos níveis de hemoglobina, mostrando ser um importante marcador da severidade do processo anêmico. Assim conclui-se que a troponina I cardíaca é um importante marcador de lesão cardíaca em quadros de hipóxia anêmica, evidenciando a relação entre os eventos. Conjuntamente à análise de troponina I cardíaca, os níveis de PCR podem ser indicadores da severidade da anemia.

Palavras-chave: Biomarcadores cardíacos. Hipóxia. Coração. Anemia. Inflamação.

SUHETT, Garcia Weslem. **Determination of cardiac and inflammatory biomarkers in dogs with varying degrees of anemia naturally acquired.** 2015. 94 f. Dissertation (Master's in Animal Science) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2015.

ABSTRACT

Anemia is a common clinical disorder that may cause cardiovascular dysfunction, risk of congestive heart failure and increase risk of mortality. In most cases, anemia is not a primary disease but rather a consequence of a disease state. The causes of anemia can be divided into three categories: blood loss, hemolysis and reduction of red blood cell production. The clinical abnormalities are usually related to the lower tissue oxygenation or associated compensatory mechanisms. The measurement of myocardial injury biomarkers such as troponin I, myoglobin, lactate and creatine kinase (CK) have been used, especially in humans, to evaluate the presence of diseases, earlier than other cardiac tests specially the ones related to hypoxia and ischemia. Therefore, this study aims to evaluate the presence of cardiac injury in dogs with different types of anemia naturally acquired in order to assist the clinician in therapeutic decision-making of anemic patients. It also aims to establish the link between the inflammatory process as an indicator of severity of the anemic frame. Hence upon, it was evaluated 108 anemic dogs in varying degrees of intensity, affected by different diseases and 30 healthy dogs, which were used as controls. The animals were evaluated by laboratory tests (hemogram and serum biochemistry) and electrocardiographic assessment as well. The electrocardiogram showed that in 34.05% (47/138) of the animals, one or more changes could be found in cases of hypoxia. In the case of the cardiac markers significant results in the evaluation of CK ($p=0.003$) and troponin I ($p<0.001$) were found where as the values were within the reference range for the species, while myoglobin ($p=0.248$) and CKMB ($p=0.211$) did not show significant differences between groups. Troponin I expressed higher values as the hematocrit has been reduced, thus the median of very severe anemia group was 0.385 ng/ml, well above the control group whose median was 0,04 ng/mL. About the evaluation of the inflammatory process using the C-reactive protein (CRP) serum levels measurement, it has been observed that the increase of its concentration was inversely correlated with hemoglobin levels, showing that it can be considered as an important marker for the severity of anemic process. Thus it is concluded that Troponin I is an important marker of cardiac damage in hypoxia conditions such as those that occur in anemia, displaying the relationship between these circumstances. Along the analysis of troponin I, CRP levels may be indicative of the severity of anemia.

Key words: Biomarkers. Hypoxia. Heart. Anemia. Inflammation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

REVISÃO DE LITERATURA

- Figura 1** – Curva de dissociação da oxihemoglobina obtida em condições de pH 7,38, pressão parcial de dióxido de carbono ($p\text{CO}_2$) e à 38°C. Também é mostrado o conteúdo total de O_2 em uma P_{50} de aproximadamente 27 mmHg 20

ARTIGO CIENTÍFICO A: UTILIZAÇÃO DE BIOMARCADORES NA AVALIAÇÃO DE LESÃO CARDÍACA EM CÃES COM ANEMIA NATURALMENTE ADQUIRIDA.

- Figura 1** – Gráfico Boxplot dos biomarcadores cardíacos de acordo com os diferentes grupos analisados. G1 – cães com VG entre 21,1 e 36% (anemia leve), G2 - cães com VG entre 16,1 e 21% (anemia moderada), G3 - cães com VG entre 10,1 e 16% (anemia grave), G4 - cães com VG igual ou abaixo de 10% (anemia muito grave) e GC - cães hígdidos, sem alteração patológica e hematológica. **A:** Gráfico Boxplot da atividade sérica de CK, **B:** Gráfico Boxplot da atividade sérica de CKMB. **C:** Gráfico Boxplot da concentração sérica de troponina I e **D:** Gráfico Boxplot da concentração sérica de mioglobina. As letras referem-se à comparação dos postos médios pelo teste Student-Newman-Keuls. UEL, Londrina, PR, 2015..... 57

ARTIGO CIENTÍFICO B: AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE PROTEÍNA C REATIVA (PCR) EM CÃES COM ANEMIA NATURALMENTE ADQUIRIDA

- Figura 1** – Gráfico de dispersão dos valores de proteína plasmática total e albumina em relação aos níveis da proteína C reativa de cães anêmicos atendidos no Hospital Veterinário da Universidade estadual de Londrina no período de Agosto de 2013 a Outubro de 2014. UEL, Londrina, PR, 2015..... 75
- Figura 2** – Gráfico Boxplot da distribuição da proteína C reativa em relação aos níveis de anemia naturalmente adquiridas em cães atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina no período de Agosto de 2013 a Outubro de 2014. **G1** - (VG entre 21,1 e 36%), **G2** - (VG entre 16,1 e 21%), **G3** - (VG entre 10,1 e 16%), **G4** - (VG menor 10%) E **GC** (VG > 36%). UEL, Londrina, PR, 2015..... 77

LISTA DE TABELAS

ARTIGO CIENTÍFICO A: UTILIZAÇÃO DE BIOMARCADORES NA AVALIAÇÃO DE LESÃO CARDÍACA EM CÃES COM ANEMIA NATURALMENTE ADQUIRIDA.

- Tabela 1** – Mediana, interquartis e posto médio dos valores da frequência cardíaca (FC), da frequência respiratória (FR), temperatura retal (TR) e pressão arterial sistólica (PAS) dos cães anêmicos (G1, G2, G3 e G4) e grupo controle (Gc), sendo G1 – Grupo de anemia leve, G2 – Grupo anemia moderada, G3 – Grupo anemia grave e G4 – Grupo anemia muito grave. UEL, Londrina, PR, 2015 51
- Tabela 2** – Resultados da avaliação hematológica expresso por suas medianas, interquartis, postos médios e valor de P do teste de Kruskal-Wallis dos cães anêmicos (G1, G2, G3 e G4) e grupo controle (Gc), sendo G1 – Grupo de anemia leve, G2 – Grupo anemia moderada, G3 – Grupo anemia grave e G4 – Grupo anemia muito grave. UEL, Londrina, PR, 2015 52
- Tabela 3** – Resultados dos valores dos exames bioquímicos expresso por suas medianas, interquartis, postos médios e valor de P do teste de Kruskal-Wallis dos cães anêmicos (G1, G2, G3 e G4) e grupo controle (Gc), sendo G1 – Grupo de anemia leve, G2 – Grupo anemia moderada, G3 – Grupo anemia grave e G4 – Grupo anemia muito grave. UEL, Londrina, PR, 2015 53
- Tabela 4** – Ocorrência alterações eletrocardiográficas sugestivas de hipóxia em cães anêmicos (G1, G2, G3 e G4) e grupo controle (Gc), sendo G1 – Grupo de anemia leve, G2 – Grupo anemia moderada, G3 – Grupo anemia grave e G4 – Grupo anemia muito grave. UEL, Londrina, PR, 2015 54
- Tabela 5** – Medianas, postos médios e interquartis de amplitude e tempo das diferentes deflexões e segmentos no traçado eletrocardiográfico dos cães anêmicos (G1, G2, G3 e G4) e grupo controle (Gc), sendo G1 – Grupo de anemia leve, G2 – Grupo anemia moderada, G3 – Grupo anemia grave e G4 – Grupo anemia muito grave. UEL, Londrina, PR, 2015. 55
- Tabela 6** – Medianas, postos médios e interquartis dos valores séricos dos biomarcadores cardíacos dos cães anêmicos (G1, G2, G3 e G4) e grupo controle (Gc), sendo G1 – Grupo de anemia leve, G2 – Grupo anemia moderada, G3 – Grupo anemia grave e G4 – Grupo anemia muito grave. UEL, Londrina, PR, 2015..... 56

ARTIGO CIENTÍFICO B: AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE PROTEÍNA C REATIVA (PCR) EM CÃES COM ANEMIA NATURALMENTE ADQUIRIDA

- Tabela 1** – Correlação de Spearman da proteína C reativa (PCR) com os parâmetros físicos frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), Tempo de preenchimento capilar (TPC) e temperatura retal (TR) de cães com anemia naturalmente adquirida. UEL, Londrina, PR, 2015 73
- Tabela 2** – Análise de variância pelo teste de Kruskal-Wallis em medianas, postos médios e interquartis dos valores hematológicos dos cães anêmicos (G1, G2, G3 e G4) e grupo controle (Gc), sendo G1 – Grupo de anemia leve, G2 – Grupo anemia moderada, G3 – Grupo anemia grave e G4 – Grupo anemia muito grave e correlação de Spearman entre os valores hematológicos e concentração sérica de PCR. UEL, Londrina, PR, 2015 74

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

O ₂	Oxigênio
Hb	Hemoglobina
Oxi-Hb	Oxihemoglobina
DO ₂	Oferta de Oxigênio
DC	Débito Cardíaco
CaO ₂	Conteúdo Arterial de Oxigênio
VO ₂	Consumo de Oxigênio
CvO ₂	Conteúdo de oxigênio no sangue venoso após mistura venosa de todos os órgãos
VG	Volume Globular
Ht	Hematócrito
Hb	Concentração de Hemoglobina
2,3 DPG	2,3 Difosfoglicerato
EO ₂	Extração de oxigênio
He	Contagem de Hemácias
PaO ₂	Pressão Parcial de Oxigênio
ECG	Eletrocardiograma
CK	Creatina Fosfoquinase
CKMB	Creatina Fosfoquinase MB
FC	Frequência Cardíaca
FR	Frequência Respiratória
LDH	Lactato Desidrogenase
MIO	Mioglobina
Pró-BNP	Peptídeo Natriurético Cerebral
Pró-ANP	Peptídeo Natriurético Atrial
ATP	Adenosina Trifosfato
ADP	Adenosina Difosfato
TnC	Troponina C
TnT	Troponina T
TnI	Troponina I
cTnI	Troponina I Cardíaca

IAM	Infarto Agudo do Miocárdio
RFA	Resposta de Fase Aguda
PFA	Proteínas de Fase Aguda
PCR	Proteína C Reativa
ALT	Alanina Amino Transferase
FA	Fosfatase Alcalina
NADH	Nicotiamida Adenina Dinucleotídeo Hidreto
NAD ⁺	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo
LPS	Proteína Ligadora de Lipopolissacarídeo
SAA	Proteína Sérica Amiloide A
AGP	α -1 Glicoproteína Ácida
DMVM	Doença Mixomatosa da Válva Mitral
SER	Sistema Retículo Endotelial
IL-1	Interleucina 1
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral Alfa

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1	FISIOLOGIA DO TRANSPORTE DE OXIGÊNIO	19
2.2	ANEMIA	21
2.2.1	Fisiopatologia da Anemia.....	21
2.2.2	Hipóxia Tecidual	25
2.2.2.1	Hemoglobina e volume globular crítico	26
2.2.3	Função Cardíaca na Anemia.....	26
2.3	ELETROCARDIOGRAMA.....	27
2.3.1	Aplicação do Eletrocardiograma em pacientes com anemia.....	28
2.4	BIOMARCADORES CARDÍACOS.....	30
2.4.1	Troponina	31
2.4.2	Mioglobina	34
2.4.3	Creatina Fosfoquinase e Creatina Fosfoquinase MB	35
2.5	LACTATO.....	37
2.5.1	Produção e Metabolismo	37
2.5.2	Causas de Hiperlactatemia.....	38
2.5.3	Lactato e Anemia	39
2.6	BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS.....	40
2.6.1	Proteína C Reativa (PCR).....	41
3	OBJETIVOS	44
3.1	OBJETIVO GERAL	44
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICO.....	44
4.	ARTIGO A – UTILIZAÇÃO DE BIOMARCADORES NA AVALIAÇÃO DE LESÃO CARDÍACA EM CÃES COM ANEMIA NATURALMENTE ADQUIRIDA	45
	RESUMO	45
	ABSTRACT.....	46

	INTRODUÇÃO	46
	MATERIAL E MÉTODOS	48
	RESULTADOS.....	50
	DISCUSSÃO.....	58
	CONCLUSÃO.....	62
	REFERÊNCIAS.....	62
5	ARTIGO B – AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE PROTEÍNA C REATIVA (PCR) EM CÃES COM ANEMIA NATURALMENTE ADQUIRIDA.....	67
	RESUMO.....	67
	ABSTRACT.....	68
	INTRODUÇÃO	68
	MATERIAL E MÉTODOS	71
	RESULTADOS E DISCUSSÃO	72
	CONCLUSÃO.....	77
	REFERÊNCIAS.....	78
6	CONCLUSÃO.....	81
	REFERÊNCIAS.....	82

1 INTRODUÇÃO

A anemia é uma alteração clínica de ocorrência comum em medicina veterinária acometendo muitos cães. Diversos graus de gravidade são observados em muitas situações clínicas, sendo que a hipóxia tecidual e a diminuição da viscosidade sanguínea exercem efeitos importantes na hemodinâmica cardiovascular (CHAMPION et al., 2013). Na maioria das vezes, a anemia não é uma doença primária, mas sim uma consequência de um estado patológico (PAGE, 2003). Ela é caracterizada pela diminuição do número de hemácias circulantes, diminuição da concentração de hemoglobina e do volume globular (DUNN, 2001). Podem-se dividir as causas da anemia em três categorias: perda sanguínea, hemólise e redução da produção de hemácias (PAGE, 2003).

As alterações clínicas geralmente estão relacionadas à menor oxigenação dos tecidos e a mecanismos compensatórios, tais como aumento no débito cardíaco, diminuição da viscosidade do sangue, diminuição da afinidade do oxigênio à hemoglobina e vasoconstrição periférica. O paciente pode apresentar apatia, fraqueza, anorexia, sopros cardíacos, dispneia e membranas mucosas pálidas ou ictericas, podendo parecer normal ocasionalmente. Animais sedentários apresentam frequentemente anemia moderada que passam despercebidas por longos períodos. Frequentemente estes sinais são acompanhados por esplenomegalia em resposta ao aumento na hemólise extravascular ou à hematopoiese extramedular (PAGE, 2003).

A hipóxia tecidual e a diminuição na viscosidade sanguínea determinam taquicardia reflexa em anemia grave de início rápido, aumento na velocidade de fluxo sanguíneo e estão relacionadas aos sopros cardíacos, sendo audíveis sobre o ápice cardíaco esquerdo (DUNN, 2001).

Em anemias crônicas intensas ou em anemias em que se perde sangue mais lentamente, o fluido se move dos tecidos para a circulação, e com isso mantém o volume circulatório. Nesses casos, a frequência cardíaca pode ficar normal ou apenas ligeiramente elevada e a pressão de pulso pode ficar aumentada. O aumento no débito cardíaco provém de aumento de volume sistólico acarretado por dilatação e hipertrofia ventriculares. (DUNN, 2001). Alterações eletrocardiográficas em ritmo, frequência ou na conformação das ondas e segmentos, podem indicar lesões hipoxêmicas orgânicas importantes, decorrente de hipóxia do miocárdio (CURTI, et al., 2010).

O eletrocardiograma (ECG), além de avaliar distúrbios eletrolíticos e hipóxia miocárdica, em quadros anêmicos pode demonstrar alterações como: arritmias

ventriculares, alterações no segmento S-T, aumento da frequência cardíaca (FC), alterações na onda T e do segmento Q-T (TILLEY, 1992; CHAMPION et al., 2013).

A anemia esta relacionada com disfunção cardiovascular, com o risco de insuficiência cardíaca congestiva, infarto do miocárdio e conseqüente aumento da mortalidade em seres humanos (BAHL et al., 2002). A utilização dos biomarcadores cardíacos auxilia o clínico veterinário no diagnóstico de diversas cardiopatias, mas, para uma interpretação adequada dos resultados, são necessários exame físico detalhado e exames complementares, como eletrocardiograma, ecocardiografia, radiografia torácica e a mensuração da pressão arterial. Os biomarcadores são indicadores de processos biológicos normais, processos patogênicos ou de intervenção farmacológica que fornecem informações considerando a exposição da doença, a extensão da lesão e o prognóstico (OYAMA e SISSON, 2004).

Sendo assim, em busca de uma avaliação precisa dos danos cardíacos muitas vezes é necessário a determinação dos níveis de mais de um biomarcador cardíaco, onde os principais são a creatina fosfoquinase (CK) e sua isoenzima creatina fosfoquinase-MB (CKMB), mioglobina (MIO) e a troponina I cardíaca (TnIc) (FERNÁNDEZ, et al., 2012).

A mioglobina é uma proteína, encontrada no músculo cardíaco e esquelético. Seu peso molecular bastante baixo permite que seja um dos primeiros marcadores séricos identificáveis após lesão isquêmica do miocárdio, entretanto, como não apresenta proteína de ligação plasmática específica possui rápido metabolismo retornando a valores basais horas após o início da lesão (CAVALCANTI et al., 1998)

A creatina fosfoquinase é uma molécula constituída por duas subunidades, M e B, que são imunologicamente distintas e sintetizadas por genes diferentes (AKTAS et al., 1993). Possui a função de tornar adenosina trifosfato (ATP) disponível para a contração muscular, por meio da fosforilação de adenosina difosfato (ADP) e creatina fosfato. São três as isoenzimas formadas: CKBB (CK1), predominante no cérebro e sistema digestório; CKMB (CK2), presente no tecido cardíaco, nos rins, nos intestinos e nos pulmões; e CKMM (CK3), presente no músculo estriado esquelético (AKTAS et al., 1993).

A troponina I, que é uma subunidade do complexo de troponina, que é modulada pelo cálcio e regula a interação de actina e miosina no músculo cardíaco e tem sido reconhecida como o marcador mais sensível e específico de necrose miocárdica em seres humanos (ADAMS et al., 1993). As troponinas vêm recebendo atenção crescente como marcadores altamente específicos de lesão celular cardíaca (GODOY et al., 1998) essa atualmente vem sendo considerada o melhor marcador de lesão miocárdica em mamíferos, por ter maior especificidade cardíaca que a CKMB (FREDERICK et al., 2001).

O lactato sérico foi um dos primeiros marcadores de hipóxia tecidual, apesar de alguns limitantes em sua interpretação clínica, este proporciona a avaliação do grau de oxigenação dos tecidos. (ALLEN e HOLM, 2008). A produção de lactato é inversamente proporcional à oxigenação tecidual, sendo resultado do catabolismo anaeróbico da glicose (HOLAHAN, BROWN, DROBATZ, 2010). A utilidade clínica dos níveis plasmáticos de lactato é importante principalmente quando este é avaliado de forma seriada (BARROSO et al., 2006), sendo citado como sinais de bom prognóstico a normalização ou redução significativa da lactatemia em 24 horas (HUGHES, 2010).

Na rotina do clínico veterinário, são muito comuns os casos de cães anêmicos, porém ainda são poucos os estudos a respeito do resultado da hipóxia no sistema cardiovascular. As análises comparativas entre cães e humanos em relação à função cardiovascular na anemia não são eficazes, uma vez que o cão responde de forma diferente aos humanos. Com este estudo será possível obter novos parâmetros a respeito da situação clínica do paciente anêmico, além de compreender melhor a eficácia dos marcadores cardíacos, como auxílio diagnóstico em casos de hipóxia de miocárdio.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 FISIOLOGIA DO TRANSPORTE DE OXIGÊNIO

O oxigênio (O_2) não é uma substância de depósito e armazenamento, portanto as células demandam um suprimento contínuo para gerar energia nas mitocôndrias e sustentar forças vitais, como o gradiente eletroquímico das membranas celulares, as contrações musculares e a síntese de macromoléculas complexas. Todo esse mecanismo só se torna possível graças à capacidade do sistema cardiovascular de suprir continuamente os tecidos com nutrientes e outras substâncias garantindo a homeostase (BARTLETT, 1996).

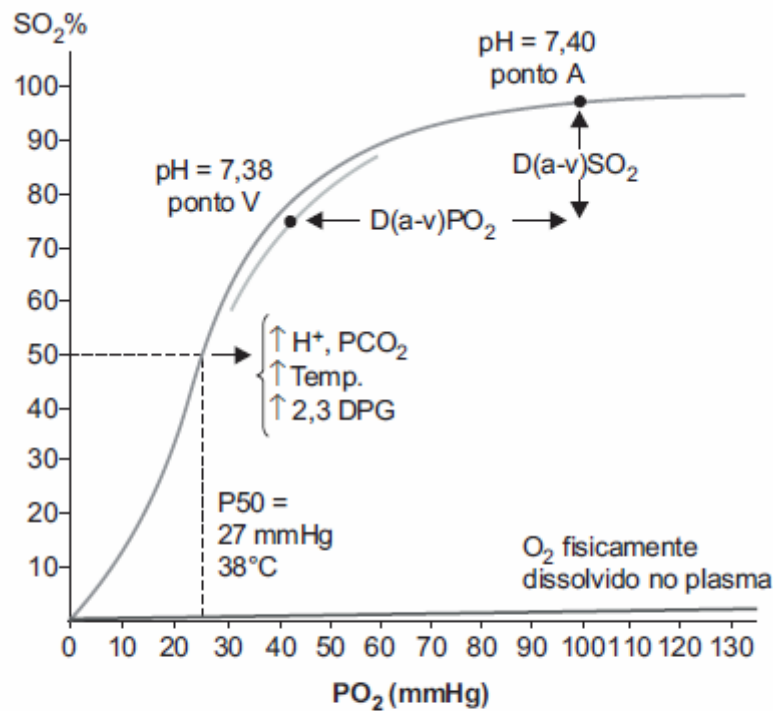
Para que o oxigênio atinja seu objetivo final, a mitocôndria, este passa pela cascata do oxigênio altamente dependente dos diferentes gradientes de pressão parcial de O_2 (pO_2), sendo progressivamente menores quando comparados ao meio externo, o trato respiratório, alvéolos, capilares e células (HABLER e MESSMER, 1997). A pO_2 do ar ambiente ao nível do mar é de 159 mmHg. Entretanto, à medida que o vapor de água é adicionado nas vias aéreas superiores esse valor tem decréscimo, de forma que o ar inspirado apresenta uma pO_2 de 149 mmHg. Esse processo é progressivo garantindo que o oxigênio alcance seu destino (GUYTON e HALL, 1997; NUNN, 2010).

A diferença alvéolo-arterial de O_2 é responsável por sua difusão do espaço alveolar para os capilares sanguíneos pulmonares. Após passar a membrana alvéolo-capilar, o O_2 é transportado no sangue por dois meios: ligado à hemoglobina e dissolvido no plasma. Desse modo, quando o sangue do capilar pulmonar se equilibra com ar alveolar, a quantidade de oxigênio fisicamente dissolvida no plasma é de apenas 0,3 ml de O_2 /100 ml de sangue (0,3%), portanto, a quantidade de O_2 livre no plasma é ínfima quando comparada proporcionalmente com O_2 transportado por ligação reversível com a hemoglobina, visto que o oxigênio possui baixa solubilidade no plasma (WEST, 1995; BARTLETT, 1996). Todavia, segundo Tucker (2003), em condições específicas, mesmo com baixa solubilidade o O_2 dissolvido no plasma, pode representar 3% do O_2 transportado mediante a necessidade do organismo.

Quase todo o O_2 transportado pelo sangue está reversivelmente ligado à hemoglobina contida dentro das hemácias, aproximadamente 98% do O_2 contido no sangue apresenta este tipo de ligação (BARTLETT, 1996; WEST, 1995). A hemoglobina (Hb) é um tetrâmero em que cada cadeia contém um grupo heme com uma molécula de ferro central que carrega O_2 . Quando o O_2 combina-se com a Hb, ela é apropriadamente denominada de

oxihemoglobina (oxi-Hb). A interação entre O_2 e o grupo heme são descritas pela curva de dissociação da oxihemoglobina (figura 1), que apresenta formato sigmoidal em decorrência da diferença de afinidade da hemoglobina totalmente livre de O_2 , quando comparada com cadeias de polipeptídeos da Hb que interagem com a primeira molécula de O_2 , aumentando a afinidade com o oxigênio, facilitando assim a união com outras moléculas de O_2 (HABLER e MESSMER, 1997; TUCKER, 2003; NUNN, 2010).

Figura 1 – Curva de dissociação da oxihemoglobina obtida em condições de pH 7,38, pressão parcial de dióxido de carbono (pCO_2) e à $38^\circ C$. Também é mostrado o conteúdo total de O_2 em uma P_{50} de aproximadamente 27 mmHg.



Ponto V (Artéria pulmonar)	Ponto A (Veia pulmonar)
$PVO_2 = 40 \text{ mmHg}$	$PaO_2 = 100 \text{ mmHg}$
$SvO_2 = 75\%$	$SaO_2 = 97,5\%$
$CvO_2 \cong 15 \text{ ml/dl}$	$CaO_2 \cong 20 \text{ ml/dl}$

Fonte: Nunn (2010) modificada.

Com isso, o sistema cardiorrespiratório desempenha um papel fundamental de garantir adequado suprimento de O_2 aos tecidos. A quantidade de oxigênio entregue por minuto aos órgãos denomina-se oferta de O_2 (DO_2), sendo definida pelo produto do débito

cardíaco (DC) e do conteúdo arterial de O₂ (CaO₂): $DO_2 = DC \times CaO_2$. Do mesmo modo em analogia à DO₂, o consumo de oxigênio (VO₂) também pode ser calculado da seguinte maneira: $VO_2 = DC \times (CaO_2 - CvO_2)$, onde CvO₂ é o conteúdo de oxigênio do sangue venoso após mistura venosa de todos os órgãos (HABLER e MESSMER, 1997).

Diversos fatores interferem no valor real da CaO₂, sendo utilizados em sua determinação, dentre eles temos a concentração de hemoglobina no sangue, saturação arterial de oxigênio da Hb, capacidade da Hb de se ligar ao oxigênio, pO₂ arterial renal e solubilidade de oxigênio no plasma (HABLER e MESSMER, 1997).

2.2 ANEMIA

A anemia pode ser definida como redução do número de eritrócitos com conseqüente piora na oferta de oxigênio tecidual. Na rotina clínica esta definição ocorre mediante avaliações laboratoriais correlacionadas ao mecanismo de transporte de oxigênio, ou seja, a anemia trata-se da diminuição no volume globular (VG) ou hematócrito (Ht), redução da concentração de hemoglobina (Hb) e contagem de hemácias (He) abaixo dos valores de referências para espécie (TRALL, 2007; NELSON e COUTO, 2010).

2.2.1 Fisiopatologia da Anemia

A anemia geralmente é decorrente de uma desordem primária que desencadeia destruição de hemácias ou hemólise, perda de sangue através de hemorragia e menor produção de hemácias, podendo ser eventos independentes ou associados (TRALL, 2007; NELSON e COUTO, 2010).

A classificação fisiopatológica baseia-se na disfunção primária, podendo ser regenerativa, causada por hemorragia ou hemólise, mas com resposta medular, ou arregenerativa, quando a eritropoiese está deficiente ou diminuída, podendo ser associada a desordens endócrinas, doença renal crônica, enfermidades inflamatórias, quadros infecciosos e destruição medular imunomediada ou por substâncias químicas (TRALL, 2007).

A anemia arregenerativa se relaciona geralmente com uma intoxicação direta dos precursores eritróides na medula óssea ou uma supressão secundária da eritropoiese. Frequentemente, afetam-se também leucócitos e plaquetas (PAGE, 2003). A anemia arregenerativa se desenvolve lentamente, sendo quase sempre crônica (BUSH, 2004).

Na anemia aplásica ocorre uma substituição quase que total de elementos hematopoiéticos por tecido adiposo. Os reticulócitos podem estar ausentes ou presentes em pequena quantidade, com exceção de alguns casos de deficiências nutricionais associados a uma moderada anemia e em algumas anemias por depressão (neoplasia ou doença hepática), pode haver uma fraca tentativa de regeneração, resultando em pequeno aumento no número de reticulócitos (BUSH, 2004).

As anemias arregenerativas crônicas podem não exigir uma transfusão sanguínea até que o volume globular (VG) caia para menos de 15% em cães ou o paciente apresente sinais clínicos compatíveis com hipóxia tecidual (PAGE, 2003).

Em contrapartida as anemias regenerativas geralmente se estabelecem como quadros agudos associados como consequência a hemorragias ou hemólise. Quadro de anemia regenerativa crônica pode ser verificada na fase de recuperação de disfunção de medula óssea ou em hemorragias crônicas (TRALL, 2007; NELSON e COUTO, 2010).

Entre as causas mais comuns de hemorragias temos os traumas, lesões hemorrágicas tumorais, úlceras e distúrbios hemostáticos como trombocitopenia, coagulopatias hereditárias e coagulopatias adquiridas, e intoxicação por warfarina (TRALL, 2007). Portanto, as hemorragias podem ser extracorporais, incluindo quadros gastrointestinais onde se perde componentes sanguíneos, como ferro e proteínas e as hemorragias cavitárias onde as proteínas são reabsorvidas em horas e grande parte das hemácias é reabsorvida pelo sistema linfático em alguns dias, sendo posteriormente destruídas pelo sistema retículo endotelial (SER) e fagocitadas com reutilização do ferro (TRALL, 2006).

O processo de perda por hemólise envolve um mecanismo mais complexo podendo ser intra ou extravascular, decorrentes de fatores intrínsecos ou primários, como nas membranopatias, hemoglobinopatias ou fatores extrínsecos como hemoparasitoses e hemólise imunomediada (PAGE, 2003).

A anemia hemolítica não imunomediada é a forma menos comum de anemia em pequenos animais. Na maioria dos casos ocorre anemia hemolítica imunomediada (BUSH, 2004), que é causada pela destruição dos eritrócitos por ação do sistema imune e resulta em uma diminuição acentuada do volume globular (LEITE e PEREIRA, 2010; BUSH, 2004). Em alguns casos, a anemia pode ocorrer tão rapidamente que o animal pode ter um período demasiadamente pequeno para obter uma resposta regenerativa no momento em que a afecção é reconhecida. É necessário um período de dois a três dias para a maturação das hemácias, quando já ocorreu uma estimulação a partir de hipóxia ou esgotamento eritrocitário severo (PAGE, 2003).

Quanto ao local da hemólise, essa pode ser intravascular, isto é, enquanto as hemácias estão na circulação, ocorrendo repentinamente como resultado de lesão na membrana das hemácias, ou extravascular, nos tecidos por fagocitose, principalmente baço e fígado (BUSH, 2004). Dependendo da severidade ou da agudeza da destruição e da capacidade do fígado em conjugar a bilirrubina, pode ou não ocorrer icterícia. As concentrações de proteínas séricas permanecem geralmente normais (NELSON e COUTO, 2010). Este tipo de anemia pode ocorrer como evento idiopático ou secundário a uma variedade de desordens infecciosas, neoplásicas entre outras (LEITE e PEREIRA, 2010). Este tipo de anemia deve ser reconhecido como emergência médica. Em despeito das elevadas taxas de mortalidade e recidiva, o diagnóstico precoce e a intervenção terapêutica adequada são fundamentais para o sucesso do tratamento (LEITE e PEREIRA, 2010).

A gravidade do quadro anêmico não pode se limitar aos resultados laboratoriais, pois fatores como a causa primária, adaptação e resposta aos mecanismos compensatórios, sinais clínicos, afecções aditivas associadas entre outras devem ser consideradas, sendo por sua vez determinada mediante ao tempo de evolução, proporção da diminuição do volume circulante e pela adaptação cardiopulmonar do animal (AIRD, 2000). Em cães, a gravidade da anemia aceita-se utilizar a porcentagem de hematócrito como base, sendo considerada anemia discreta ou leve os valores compreendidos entre 30 a 35%, moderada entre 20 a 29%, grave entre 13 a 19% e muito grave ou crítico valores inferiores a 13% (TVEDTEN e WEISS, 2000; WEISS e WARDROP, 2010).

Para os seres humanos costumam-se utilizar classificações com base nos valores de hemoglobina, apresentando diferentes classificações, mediante as particularidades de idade, sexo, padrões raciais e período fértil (STANOJEVIC e STANKOV, 1998, JAMNICKI et al., 2003). Segundo Lauscher e colaboradores (2011) em um estudo de correlação da frequência cardíaca com níveis críticos de hemoglobina em suínos como modelo experimental para humanos, os indivíduos que apresentavam níveis de hemoglobina entre 9g/dL a 7g/dL apresentavam anemia leve, aqueles que apresentavam valores entre 6,9 g/dL a 5,0 g/dL apresentavam anemia moderada, os que apresentavam valores entre 4,9 a 4,0 como anemia grave e inferiores a 4,0 g/dL como anemia crítica.

Diariamente 1% dos eritrócitos circulantes são perdidos, sendo que essas perdas são compensadas pela eritropoiese desempenhada em condições normais pela medula óssea, entretanto, nos quadros anêmicos, este mecanismo se torna insuficiente demandando de outros meios para compensar a hipóxia tecidual (AIRD, 2000).

As manifestações clínicas em decorrência ao quadro de anemia podem ser crônicas ou agudas, sendo determinadas pela sua origem, tempo de evolução e patogênese. Esses sinais são atribuídos à redução da capacidade do sangue de carrear oxigênio em consequência aos baixos níveis de hemoglobina, levando ao quadro de hipóxia que automaticamente desencadeia mecanismos compensatórios (AIRD, 2000; FELDMAN et al., 2000). Palidez de mucosas, apatia, anorexia, fraqueza, intolerância ao exercício, dispneia, taquicardia, taquipnéia e sopros sistólicos são os sinais clínicos mais comumente observados em cães anêmicos (ETTINGER e FELDMAN, 2014).

Um dos primeiros mecanismos compensatórios à hipóxia é a diminuição da afinidade da hemoglobina ao oxigênio. A quantidade de O_2 liberado para os tecidos são regulados pelo 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG), na sua presença a hemoglobina pode liberar o oxigênio aos tecidos periféricos com maior facilidade (FELDMAN et al., 2000). Portanto, há um aumento da produção de 2,3-DPG inversamente proporcional aos níveis de hemoglobina, ocorrendo um deslocamento da curva de dissociação de oxihemoglobina à direita após 12 a 36 horas, facilitando a liberação de oxigênio aos tecidos a fim de melhorar a oxigenação tecidual e diminuir os sinais clínicos inerentes à hipóxia (AIRD, 2000; VAN DER LINDEN, 2007).

Adicionalmente, ocorre redistribuição da perfusão sanguínea para órgãos vitais como cérebro e coração. Durante o quadro anêmico regenerativo a produção de eritrócitos pode estar aumentada de seis a dez vezes quando comparada a produção em condições não anêmicas, decorrente do aumento da síntese de eritropoietina pelo rim em resposta à hipóxia tecidual e à capacidade de resposta da medula óssea ao estímulo da eritropoietina (FELDMAN et al., 2000; HÉBERT et al, 2004; VAN DER LINDEN, 2007).

Em decorrência da diminuição da capacidade de transporte de O_2 , conseqüentemente, ocorre o aumento do débito cardíaco (DC) com a finalidade de manter a oferta de O_2 aos tecidos periféricos. Este aumento ocorre em consequência ao aumento no volume de ejeção e da frequência cardíaca (VAN DER LINDEN, 2007).

A redução gradativa da viscosidade sanguínea decorre da diminuição proporcional da hemoglobina, evento fundamental no aumento do volume de ejeção em decorrência ao aumento do retorno venoso com conseqüente redução da resistência vascular periférica total (VAN DER LINDEN, 2007).

A frequência cardíaca é controlada pelo sistema autônomo, deste modo, acredita-se que mediante os estímulos de quimiorreceptores aórticos e pela liberação de catecolaminas, ocorra a resposta fisiológica de aumento na frequência cardíaca (FELDMAN et al., 2000; HÉBERT et al., 2004). O aumento da frequência cardíaca é diretamente

proporcional ao aumento do consumo de O_2 pelo miocárdio, que associado à presença de anemias moderadas ou graves, pode diminuir o suporte de O_2 para o músculo cardíaco causando hipóxia desse tecido (LEUNG et al., 2000).

A pré-carga ventricular esquerda é o fator determinante da resposta cardiovascular, quando o volume intravascular é preservado, a redução do conteúdo de O_2 é tolerada em maior grau comparada à anemia hipovolêmica. Assim, entende-se o maior risco em quadros anêmicos agudos por perda de sangue levando a quadros de hipóxia tecidual ou até mesmo anóxia em decorrência à diminuição do fluxo sanguíneo e diminuição da capacidade de transporte de O_2 (HABLER e MESSMER, 1997; HÉBERT et al., 2004).

2.2.2 Hipóxia Tecidual

Define-se hipóxia o processo desencadeado pela diminuição da oferta de oxigênio (DO_2) aos tecidos abaixo do ponto crítico, nos quais os mecanismos compensatórios tornam-se insuficientes e o consumo de oxigênio (VO_2) diminui. Na anemia, inicialmente o quadro hipoxêmico ou VO_2 é mantido sobre controle via mecanismos compensatórios mesmo com a diminuição da DO_2 (JAMNICKI et al., 2003).

As reservas de O_2 venosa são utilizadas para manter inalteradas por certo período o VO_2 quando a DO_2 diminui. A extração de O_2 (EO_2) é expressa como o quociente do VO_2 e da DO_2 . Quando é ultrapassado o valor crítico da DO_2 , o VO_2 começa diminuir de forma a se tornar ineficiente a entrega de O_2 , assim não suprindo as demandas dos tecidos (HABLER e MESSMER, 1997).

A curva de dissociação da oxihemoglobina saturada e a pressão parcial de O_2 (PaO_2) apresenta forma sigmoide, com um platô nos valores de PaO_2 mais altos. A hipoxemia está presente quando a PaO_2 for menor que a variação normal. A hemoglobina normal é quase totalmente saturada com oxigênio quando a PaO_2 é igual ou superior a 80 mmHg, um valor inferior a 60 mmHg corresponde à saturação de hemoglobina considerada perigosa e o tratamento para hipoxemia é indicado (NELSON e COUTO, 2010).

Entretanto, os diferentes tecidos apresentam demandas diferentes de oxigênio, conseqüentemente, tolerando mais ou menos mudanças na DO_2 . Assim, uma “margem de segurança” para a DO_2 está presente, o que permite alterações nas demandas metabólicas sem mudança no fluxo sanguíneo, sendo esta “margem de segurança” peculiar a cada tecido, visto que órgãos como o rim e a pele, com grandes fluxos de sangue e relativamente com baixas demandas de O_2 extraem apenas de 7 a 10 % de sua DO_2 total em

repouso, enquanto o coração, em que um aumento na demanda de O₂ deve ser atendido em grande medida pelo aumento do fluxo sanguíneo coronariano (WADE e BISHOP, 1962).

2.2.2.1 Hemoglobina e volume globular críticos

Quando a concentração de hemoglobina, onde o VO₂ se torna dependente da DO₂ denomina-se hemoglobina crítica (JAMNICKI et al., 2003). Mediante o modelo de hemodiluição normovolêmica aguda, alguns pesquisadores objetivaram determinar a concentração de hemoglobina crítica (LAUSCHER et al., 2011). Jamnicki e colaboradores (2003) relataram que em cães anestesiados, a DO₂ sistêmica crítica varia entre 4 a 10 mL/Kg/min, dependendo do tipo e da profundidade anestésica, valores estes compatíveis a 2,5 e 4,1 g/dL de hemoglobina.

O valor do volume globular crítico ou hematócrito crítico apresenta diversas controvérsias na literatura, alguns dos primeiros estudos como hemodiluição em cães anestesiados trazem como valores críticos para oxigenação do miocárdio os volumes globulares de 20% (GEHA, 1976), 12% (BAGGER, 1978), 10% (CAIN, 1977) e 9% (LEVY et al., 1993) valores estes que conflitam com estudo de Habler et al. (1998) onde ao realizar hemodiluição em cães anestesiados com isoflurano sob ventilação hiperóxida, não demonstrou sinais evidentes de dependência da DO₂ pelo miocárdio, apesar da redução dos valores de VG a 8-9%.

2.2.3 Função Cardíaca na Anemia

A função cardíaca em animais anêmicos demanda especial atenção, pois mediante a mecanismos compensatórios fisiológicos ocorre uma maior exigência desse órgão com a finalidade de manter a oxigenação tecidual (YAPHÉ et al., 1993). Entretanto, este órgão também necessita de demandas de oxigênio e nutrientes que nos quadros anêmicos aumenta-se a necessidade e diminui a oferta. Vatner e colaboradores (1972) comprovaram este dado quando observaram um aumento do fluxo coronariano e diminuição da resistência vascular sistêmica, ocorrendo maior extração de oxigênio no leito coronariano, de forma proporcional ao grau de anemia em cães.

Em seres humanos observa-se o volume diastólico final do ventrículo esquerdo elevado nos quadros anêmicos, portanto, para manutenção do débito cardíaco ocorre

o aumento da pré-carga e a diminuição da pós-carga, que na sua perpetuação poderá acarretar insuficiência cardíaca congestiva (AIRD, 2000).

A hipóxia crônica pode levar à falência na contratilidade cardíaca atribuída ao desequilíbrio entre a demanda e a oferta de oxigênio ao miocárdio, quadro esse agravado pela elevação da frequência cardíaca contribuindo com aumento da demanda de oxigênio, resultando em eventos isquêmicos (LEUNG et al., 2000).

Em humanos, alterações nas funções cardíacas em decorrência da anemia vêm sendo amplamente discutidas na literatura em suas diversas apresentações como anemia ferropriva, anemia falciforme, talassemia, hemodiluição e insuficiência renal crônica (MEHTA et al., 1983; BAHL et al., 1992; KIKUCHI e INAGAKI, 1999; LEUNG et al., 2000; AESSOPOS et al., 2004). Deste modo, nos humanos já é consenso a influência da anemia sobre a função sistólica e a possibilidade de desencadeamento de insuficiência cardíaca (BAHL et al., 1992). Entretanto, em cães e gatos poucos estudos descrevem a influência da anemia na função cardiovascular (NOZAKI et al., 2002; CHAMPION, 2013).

2.3 ELETROCARDIOGRAMA

O eletrocardiograma (ECG) é um registro gráfico da voltagem produzida pelas células do músculo cardíaco na despolarização e na repolarização por período de tempo determinado, sendo útil no diagnóstico de arritmias cardíacas, determinando a origem do ritmo e a frequência de geração de impulso. Além disso, sugere informações a respeito do miocárdio, uma vez que as deflexões P, QRS e T do traçado eletrocardiográfico são frequentemente alteradas tanto por fatores tanto patológicos quanto fisiológicos (TILLEY, 1992).

O eletrocardiograma (ECG) assim como um hemograma, não é um indicador absoluto de normalidade ou doença, pois apresenta baixa sensibilidade e especificidade para determinadas inferências sobre a morfologia, anatomia e funcionamento cardíaco, sendo que sua maior aplicabilidade é avaliar o estado elétrico do coração (ETTINGER e FELDMAN, 2014).

Durante o registro gráfico dos potenciais elétricos produzidos pelo coração durante as diferentes fases do ciclo cardíaco, a onda P corresponde à despolarização atrial, podendo ser positiva, negativa ou bifásica. O complexo QRS é inerente à despolarização ou contração ventricular, onde a onda Q é a primeira deflexão negativa, a onda R é a primeira deflexão positiva e a onda S é a deflexão negativa que sucede a onda R. A onda T representa a

repolarização ou relaxamento ventricular podendo apresentar diversas conformações (TILLEY e BURTNICK, 2004).

Para uma melhor compreensão do todo, a atividade elétrica cardíaca é avaliada por diferentes ângulos, onde cada ângulo é chamado de derivação. Assim temos as derivações bipolares de membros (DI, DII e DIII) e as unipolares aumentadas de membros (aVR, aVL e aVF) que representam as derivações básicas a serem utilizadas no cão, formando o sistema hexaxial do plano frontal. Para maior acurácia dos resultados as derivações pré-cordiais (rV₂, V₂, V₄ e V₁₀) em condições específicas se fazem necessárias (CAMACHO et al., 2010; LEITÃO et al., 2011).

2.3.1 Aplicação do eletrocardiograma em pacientes com anemia

Anormalidades eletrocardiográficas têm sido registradas em humanos anêmicos com incidência variando 10 a 80% dependendo da intensidade, tempo de evolução e adaptação orgânica frente à anemia. Um estudo demonstrou que 64% de pacientes com anemia crônica apresentavam anormalidades eletrocardiográficas, sendo que em repouso apenas 3% destes pacientes demonstraram infradesnível em segmento ST enquanto que após teste de estresse foram observadas as outras alterações eletrocardiográficas, tais como: infradesnível do segmento ST (33%), inversão de onda T (10%) e prolongamento do intervalo QT (27%) (STANOJEVIC e STANKOV, 1998; KIKUCHI e INAGAKI, 1999; BAILEY et al., 2003).

Assim, segundo Tilley (1992), as alterações eletrocardiográficas em decorrência dos quadros de hipóxia não são exclusivas para esta condição, podendo ser encontradas taquicardia sinusal, extrassístole atrial, extrassístole juncional, extrassístole ventricular, taquicardia atrial, taquicardia juncional, taquicardia ventricular, fibrilação atrial, fibrilação ventricular e onda T acima do limite de 25% da amplitude da onda R. Também podem ocorrer alterações em seguimento ST, principalmente em seres humanos sendo representados por supra e infradesnívelamento e presença de *slurring* (LEITÃO et al., 2011).

Algumas alterações podem não se correlacionar ao quadro de hipóxia e ser em decorrência a exercícios, ou contenção ou patológica associada à doença valvar degenerativa, doença cardíaca congênita, insuficiência cardíaca congestiva, infarto ou isquemia do miocárdio, pericardite, neoplasia cardíaca, doença pulmonar, febre, choque, inflamação, infecção, sepse, endocrinopatias, pancreatite, hipercalcemia, fármacos, dentre outras causas (TILLEY, 1992; KIKUCHI e INAGAKI, 1999; LEITÃO et al., 2011).

Aessopos e colaboradores (2004) descreveram alterações em traçado eletrocardiográfico compatível à sobrecarga ventricular esquerda e direita, com desvio para a direita, bloqueio de ramo direito, bloqueio atrioventricular de terceiro grau, contração atrial prematura e fibrilação atrial em seres humanos com anemia grave, entretanto Singh e Sood (1996) em estudo semelhante concluíram que apesar de cardiomegalia, não ocorre o desvio de eixo cardíaco em pacientes anêmicos.

A correlação entre o quadro anêmico e alterações no seguimento ST em humanos foi comprovada através de estudos que relataram que após a terapia com ferro ou transfusão sanguínea, os pacientes apresentaram retorno progressivo do segmento ST à linha de base mediante ao aumento do volume globular (MEHTA et al., 1983; BAILEY et al., 2003).

Kikuchi e Inagaki (1999) estudaram a relação entre a concentração de hemoglobina e a presença de extrassístoles em pacientes idosos com anemia ferropriva, onde em concentrações baixas de Hb com valores entre 6 a 5 g/dL houve um aumento significativo das extrassístoles supraventriculares e ventriculares.

Em cães e gatos os estudos são mais escassos, mas algumas alterações eletrocardiográficas já foram associadas à anemia, tais como taquicardia sinusal (BAHL et al., 1992) e complexos ventriculares prematuros (TILLEY, 1992) e extrassístoles atriais, aumento de amplitude de onde T, infradesnívelamento e *slurring* (PINCELLI, 2012). Em gatos, a anemia também pode promover padrão eletrocardiográfico sugestivo de sobrecarga de pressão ventricular esquerda, visto que a anemia crônica apresenta associação com hipertensão arterial sistêmica nesta espécie (TILLEY, 1992).

Em 121 cães anêmicos com babesiose, as alterações encontradas foram onda T com amplitude aumentada, desvio do eixo cardíaco, complexo QRS largo, depressão do segmento ST, baixa amplitude da onda R, onda R chanfrada, onda Q proeminente, bloqueio sinoatrial ou parada sinusal e extra-sístole ventricular, alterações essas semelhantemente descritas em quadros de miocardite e isquemia miocárdica (DVIR et al., 2004).

Em um estudo que avaliou 21 cães com anemia naturalmente adquirida por diferentes causas divididos de acordo com o grau de anemia, onde o grupo um os animais apresentavam VG entre 21 a 29,9% (n=9), grupo dois VG entre 13 a 20,9% (n=5) e grupo três com VG abaixo de 12,9% (n=7) observou uma maior incidência de arritmias representadas por extrassístole ventricular e taquicardia ventricular no grupo de maior gravidade do quadro anêmico, ou seja, grupo três (CURTI et al., 2010).

Champion e colaboradores (2011) submeteram cães à hemodiluição normovolêmica aguda até a obtenção de hematócrito abaixo de 18% onde não foram encontradas alterações sugestivas de hipóxia, infarto do miocárdio, desequilíbrio eletrolítico, exceto a ocorrência de *slurring* do segmento ST em 20% dos pacientes. Por outro lado, Pincelli (2012) avaliando cães com anemias naturalmente adquiridas, acometidos por diversas afecções evidenciou a ocorrência de extrassístole atrial em 7,8%, presença de extrassístole ventricular em 6,7%, taquicardia sinusal em 7,8%, taquicardia ventricular 1,1%, infradesnível em 3,3% e *slurring* em 3,3%, de forma a demonstrar a importância da avaliação cardíaca de cães anêmicos.

Em outro estudo onde avaliaram animais anêmicos em decorrência de hemoparasitoses, as alterações apresentavam correlação com o grau de anemia onde foram encontrado aumento de amplitude da onda P em 42,86% do grupo com anemia leve, 14,29% com anemia moderada, 28,57% em cães com anemia severa e 14,29% e pacientes com anemia muito severa. Também foram observados QRS largo em 42,86% dos animais do grupo com anemia muito severa, presença de infradesnível do segmento ST de 42,86% dos animais com anemia moderada e 14,29% dos animais com anemia severa, presença de supradesnível do segmento ST de 14,29% dos animais com anemia severa. Os distúrbios do ritmo só foram observados nos animais que apresentavam anemia muito severa perfazendo 14,29% dos pacientes (CHAMPION et al., 2013).

2.4 BIOMARCADORES CARDÍACOS

Os biomarcadores cardíacos têm apresentado certo destaque, particularmente como testes não invasivos para a diferenciação entre doença respiratória e cardíaca ou insuficiência cardíaca em seres humanos, cães e gatos (OYAMA e SISSON, 2004; BOSWOOD et al., 2008). Essas substâncias são indicadoras de processos biológicos normais, patogênicos ou de intervenção farmacológica fornecendo informações a respeito da extensão da lesão e do prognóstico (OYAMA e SISSON, 2004; YONEZAWA et al., 2010).

Assim, são diversas as utilidades dos biomarcadores, como na distinção de causas cardíacas e não cardíacas de dispneia e tosse, lesão miocárdica associada à doença cardíaca isquêmica, trauma torácico, miocardite, uso de fármacos cardiotóxicos; ou ainda, no diagnóstico de doenças cardíacas assintomáticas ou minimamente sintomáticas, permitindo que a intervenção terapêutica seja estabelecida mais precocemente (SCHOBER et al., 1999).

O marcador cardíaco ideal precisa atender a vários critérios, dentre eles alta sensibilidade, sendo detectado precocemente mesmo em baixa quantidade em injúria miocárdica leve; e alta especificidade, não sendo detectável pela lesão em outros órgãos ou tecidos; ser facilmente quantificado a baixo custo; apresentar boa janela diagnóstica, ou seja, aumentar mais precocemente, e o retorno aos níveis basais ser mais demorado, conferindo maior tempo para detecção da alteração pelo clínico (SHINDE et al., 2004). Atualmente, nenhum dos marcadores cardíacos disponíveis apresenta todos os critérios. Por isso, pesquisas devem ser realizadas em busca do preenchimento dessas lacunas (YONEZAWA et al., 2010).

2.4.1 Troponina

A troponina é o biomarcador de escolha mais indicado para a detecção de lesão cardíaca, sendo a Troponina Cardíaca-I (cTnI) um marcador sensível e específico de injúria no miocárdio, embora eles não forneçam qualquer informação sobre o mecanismo de lesão (SPRATT et al. 2005).

As troponinas compreendem um complexo protéico que forma parte do aparato contrátil, o complexo troponina-tropomiosina, encontrado dentro dos sarcômeros dos músculos estriados. Esse complexo age na regulação da contração muscular e é composto pela tropomiosina e por três troponinas: troponina C (TnC), I (TnI) e T (TnT) (COLLINSON et al., 2001).

As subunidades formadoras da troponina são polipeptídios com funções específicas no processo de contração muscular cálcio dependente. Assim a TnT subunidade não específica é responsável pela interação com a tropomiosina no processo de contração muscular, a TnI que liga-se a actina, possui função inibitória por formar um complexo com a TnT e tropomiosina inibindo a interação da actina com a miosina, mesmo na presença de cálcio. A subunidade TnC é a porção sensível ao cálcio, ligando-se a quatro moléculas desse íon liberando a inibição da ligação da miosina a actina favorecendo desta forma a contração muscular (GUYTON e HALL, 1997).

A liberação de cTnI na circulação parece estar relacionada às áreas de necrose de cardiomiócitos de maneira irreversível, sendo o aumento da concentração proporcional à severidade da lesão. A maior parte da cTnI é encontrada no aparato contrátil e é liberada por degradação proteolítica. O rompimento das proteínas contráteis intracelulares como resultado de isquemia ocorre rapidamente, causando um pool citosólico (COLLINSON et al., 2001). A cTnI é liberada em três formas: livre, complexo TnI-TnC e complexo TnT-

TnI-TnC, que apresentam diferentes graus de degradação, e a parte predominante de cTnI circula na forma de complexo (YONEZAWA et al., 2010).

Outro mecanismo de liberação é explicado pelo aumento da permeabilidade da membrana dos miócitos ocasionado por hipóxia, permitindo que somente a fração citosólica seja liberada de maneira reversível (COLLINSON et al., 2001).

As isoformas da troponina podem ser detectadas no plasma por meio de técnicas de imunoensaio e quimiluminescência; suas características são conhecidas, as massas das troponinas cardíacas livres T e I possuem respectivamente 37 e 24 Kda, sendo de grande importância como diagnóstico diferencial (WU e FORD, 1999). Rishinw e colaboradores (2004) estudando os genes que codificam cTnI em cães e gatos, sequenciaram e clonaram os mesmos, observando-se semelhança de 95% e 96 % respectivamente, comparando-se aos genes humanos.

Os ensaios desenvolvidos para dosagem de troponina humana já foram validados para várias espécies animais. O aumento de seus níveis foi descrito em cães com cardiomiopatia dilatada (OYAMA e SISSON, 2004), trauma cardíaco (DINIZ et al., 2007), erliquiose (DINIZ et al., 2008), além de outras enfermidades como a síndrome dilatação-torção gástrica, piometra, doenças sistêmicas, miocardites, infarto do miocárdio, dirofilariose, babesiose e valvulopatias (O'BRIEN et al., 1997; NUNES, 2001; SCHOBBER, 2002; LOBETTI et al., 2002; OYAMA e SISSON, 2004; LINKLATE et al., 2007; SANTOS et al., 2011).

Um dos estudos pioneiros dosando a cTnI em cães da raça dobermann com insuficiência cardíaca congestiva (ICC) secundária a cardiomiopatia dilatada, encontrou-se diferença de 30% a mais de cTnI no grupo com ICC quando comparado com cães normais (O'BRIEN, 1997).

Infecções parasitárias são frequentes na rotina clínica veterinária. Algumas em especial possuem grande importância pelo fato de comprometerem o sistema circulatório, tanto fisicamente quanto fisiologicamente (LOBETTI et al., 2002). Como exemplos, temos a babesiose e a erliquiose, hemoparasitas que podem promover quadros anêmicos por diferentes mecanismos, e a dirofilariose, parasita que compromete a circulação sanguínea causando danos à musculatura cardíaca, portanto podem promover alterações nos níveis de troponina (DINIZ et al., 2008; CARRETÓN et al., 2013).

Portanto essa ferramenta pode ser utilizada em medidas diagnósticas e prognósticas de lesões cardíacas, sendo uma importante fonte para prevenção de diversas morbidades crônicas decorrentes de injúria, ou agudas decorrentes de lesões miocárdicas

trombóticas (MORROW, 2001). A sensibilidade do teste depende essencialmente da qualidade dos anticorpos utilizados e do método utilizado por cada fabricante para padronização do mesmo, lembrando que testes muito sensíveis podem induzir o resultado a falsos positivos (MARTINS, 2009). Deve-se prestar muita atenção nos testes analíticos, pois os resultados podem sofrer interferência de substâncias como anticorpos heterofílicos, fator reumatóide sérico positivo e substâncias não identificadas (KHAN, 1999; FLEMING, 2002).

A mensuração das troponinas cardíacas possibilita um novo método que auxilia na detecção das lesões cardíacas e permite ao clínico uma identificação precisa para pacientes que possuam síndromes coronárias com risco de eventos de isquemia antecipadamente (MORROW, 2001), com base nos dados clínicos dos exames realizados para detecção da elevação dos níveis de cTnI resultantes de necrose dos miócitos (MORROW e LEMOS, 2007).

A detecção de altas concentrações de cTnI no plasma circulante é visto como um indicador específico de lesão do miocárdio (FISHBEIN et al. 1981), sendo que a troponina I tornam-se mensurável de três a quatro horas após o início da lesão cardíaca (GODOY et al., 1998).

Esta ferramenta também pode ser utilizada para determinar uma isquemia silenciosa em pacientes com lesão crônica (BURGENER, 2006), nessas condições a troponina I é capaz de identificar lesões decorrentes de tromboembolismo, auxiliando o clínico a adotar estratégias terapêuticas para doenças ainda não manifestadas, utilizando assim um antitrombótico eficiente que acarretará na solução do problema (GOLDMANN, 2001)

Além da detecção de danos nas células do miocárdio, a cTnI pode ser utilizada como parâmetro prognóstico para monitorar injúrias crônicas no miocárdio (FONFARA et al., 2010). Atualmente, ela vem sendo muito enaltecida devido a sua alta sensibilidade e importância clínica (MARTINS, 2009), sendo utilizada no estudo e prognóstico de várias afecções de importância clínica ligadas a danos no miocárdio (BURGENER, 2006).

Fonfara e colaboradores (2010) estudaram as concentrações de cTnI em cães da raça *english springer spaniels* que apresentavam bradiarritmia e foram submetidos a implante de marcapassos. Os resultados encontrados revelaram que não houve diferença significativa das concentrações e comparando-se a outras raças, mas os resultados revelam diferenças antes e após o implante.

Linklater e colaboradores (2007) estudando lesões cardíacas de cães com insuficiência cardíaca classe IV e doença da valva mitral, compararam a diferença dos níveis

de troponina com a magnitude das lesões e a severidade dos parâmetros clínicos encontrados. Neste estudo observaram que 40% (6/15) dos cães avaliados apresentavam níveis detectáveis e apesar de não se correlacionar com prognóstico, a curto prazo os cães com níveis de troponina detectáveis tiveram menor sobrevida a longo prazo (390 dias) quando comparado aos que não apresentavam níveis detectáveis (912 dias).

Uma das finalidades dos biomarcadores cardíacos é que estes permitem distinguir com alta sensibilidade e especificidade os animais com doença cardíaca e insuficiência cardíaca muitas vezes subclínica, daqueles animais com doença respiratória, sendo minimamente invasivo e rápido (ADANS et al., 1993; SPRATT et al., 2005). De acordo com Thrall (2006), o sucesso do tratamento da anemia está em reconhecer a causa primária, os mecanismos desencadeadores de lesão tecidual e estabelecer o prognóstico, assim os biomarcadores podem se tornar importantes aliados na avaliação de pacientes anêmicos.

2.4.2 Mioglobina

A mioglobina é uma heme proteína de 17700 dáltons, encontrada no músculo cardíaco e esquelético, sem proteína de ligação plasmática específica e que é filtrada livremente pelo glomérulo. Seu peso molecular bastante baixo permite que seja um dos primeiros marcadores séricos identificáveis após lesão isquêmica do miocárdio, entretanto só torna-se detectável na urina com concentrações séricas superiores a 300 ng/mL e vindo a produzir alteração na coloração da urina com concentrações urinárias de 100 mg/dL (MARKS, 1971; GILKESON et al., 1978; MCCOMB et al., 1984; CAVALCANTI et al., 1998; ROSA, et al., 2005).

A mioglobina sérica tem um metabolismo hepático e excreção renal rápidos e não previsíveis, o que a torna um marcador de necrose muscular pouco sensível, sendo assim, a concentração sérica de mioglobina retorna aos valores normais aproximadamente seis horas, após o início da lesão (LOPEZ et al., 1995; VANHOLDER et al., 2000; ROSA et al., 2005).

Apesar da aplicabilidade da mioglobina como marcador precoce no infarto agudo do miocárdio existir há alguns anos, apenas recentemente foram desenvolvidos métodos de dosagem capazes de fornecer medidas quantitativas de mioglobina sérica de modo rápido, viabilizando seu uso no ambiente de emergência (MAIR et al., 1992).

Cavalcanti e colaboradores (1998) avaliando a sensibilidade e especificidade da mioglobina em pacientes com infarto agudo do miocárdio (IAM), atendidos em

emergência em um período de até seis horas após início dos sintomas, observaram que em um grupo de 18 pacientes com IAM, 11 apresentavam valores alterados de mioglobina, enquanto que o grupo de pacientes sem IAM (n=46) somente um apresentou valores alterados para mioglobina. Sendo assim, a mioglobina apresentou sensibilidade de 61,1% e especificidade de 97,8%.

A especificidade e sensibilidade de um teste pode estar relacionada ao tempo de evolução explicando assim os diferentes resultados entre estudos apresentados na literatura, a exemplo observa-se que a mioglobina atinge valores séricos anormais em média de meia a duas horas após início da lesão (DREXEL et al., 1983; LEE e GOLDMAN, 1986; CAVALCANTI et al., 1998).

Limitadas publicações têm correlacionado as concentrações séricas de mioglobina na rotina veterinária, sendo que existem relatos correlacionando lesão muscular após massivo ataque por abelhas em um pastor alemão (MUGHAL et al., 2014), peixe-zebra submetido a hipóxia crônica (JASPERS et al., 2014), cardiopatia induzida por estresse em focas (SEGUEL et al., 2014) e infarto agudo do miocárdio em cães após oclusão experimental de coronárias (MCCOMB et al., 1984), possivelmente por se tratar de um biomarcador com pequena janela diagnóstica e existirem alternativas mais específicas e sensíveis o seu uso se tornou pouco interessante na medicina veterinária

2.4.3 Creatina Fosfoquinase e Creatina Fosfoquinase MB

A CK é um marcador sensível liberada para a circulação após a morte de células musculares esqueléticas podendo atingir concentrações séricas da ordem das 100000 U/mL. Possui um metabolismo mais lento e previsível quando comparado com a mioglobina de forma a se tornar um marcador confiável de lesão muscular (CAVALCANTI et al., 1998).

A CK e sua fração MB (CKMB) são amplamente utilizadas na avaliação do infarto agudo do miocárdio (IAM) em seres humanos, possibilitando sua confirmação ou exclusão. Entretanto, sua elevação sérica só ocorre após quatro horas do início da dor torácica, sendo, portanto considerado um marcador cardíaco de baixa sensibilidade no estágio inicial (LEE e GOLDMAN, 1986; CAVALCANTI et al., 1998).

Em um estudo no qual avaliou-se humanos com IAM foi observado que 33,33% (n=6) dos pacientes com diagnóstico confirmado até seis horas do início sintomas apresentavam alterações séricas de CK total, enquanto no grupo controle com pacientes negativos para IAM (n=46), houve 39 resultados normais, permitindo assim estipular a

sensibilidade da CK no diagnóstico precoce do IAM em 33,3% dos pacientes e especificidade de 84,8%. Já a fração CKMB apresentou sensibilidade de 22,2%, e especificidade de 95,7%, de forma que apesar de mais específico a fração demonstra-se menos sensível para este tipo de avaliação (CAVALCANTI et al., 1998).

No cão, a creatina fosfoquinase está presente principalmente na musculatura esquelética, miocárdio, cérebro e intestino. A isoenzima MB predomina nos músculos e no miocárdio. Sexo não tem nenhuma influência sobre a atividade sérica de CK, que é maior em cães jovens que em adultos. A atividade da CK está elevada após o exercício físico. Após sua liberação celular, a CK atinge o plasma principalmente por via linfática e, em seguida, permanece no plasma. A CK é rapidamente eliminada, com uma meia-vida aproximada de duas horas (AKTAS et al., 1993). Em um estudo com cães com suspeita de lesão miocárdica provocada por trauma, foi observado aumento da CKMB. Porém, os autores do estudo não descartam a possibilidade da liberação de CKMB, tanto de miocárdio, como de músculo esquelético, em decorrência a lesão muscular concomitante (DINIZ et al., 2007). A CKMB tem sido considerada o marcador bioquímico padrão para detecção de IAM em humanos, no entanto, a especificidade de tecidos pode não ser absoluta (DINIZ et al., 2007).

Em cães existem relatos de maior atividade sérica da CKMB por causa de comprometimento miocárdico secundário à parvovirose, dirofilariose, endocardite e cardiomiopatia hipertrófica (AKTAS et al., 1993; YONEZAWA et al., 2010). Pino e colaboradores (2008) encontraram níveis de CKMB significativamente maiores em cães com algum tipo de doença cardiovascular quando comparados a cães hígidos. Segundo os autores, a hipóxia instalada ocasiona instabilidade e altera a permeabilidade da membrana dos miócitos, acarretando a elevação da enzima no soro.

A redução da oferta de oxigênio nos músculos pode causar um aumento no metabolismo das células musculares. Uma diminuição no fornecimento de oxigênio para o miocárdio é suficiente para induzir a um aumento de CKMB sérica em cães. Assim, esses eventos poderiam ser suficientes para promover alterações na atividade sérica da CK. Isso pode ser explicado pela diminuição na oferta de oxigênio ao miocárdio, induzindo uma diminuição rápida no RNA mensageiro da subunidade M (M-subunit mRNA) e um aumento da expressão de mRNA da subunidade B (FRANCO et al., 2009).

Entretanto apesar de ser uma alternativa quando comparada a mioglobina por apresentar melhor janela diagnóstica, visto que, apresenta um metabolismo mais lento mantendo-se circulante por um período maior, a avaliação da CK e CKMB possui como fator limitante a demora usualmente de quatro a oito horas para se elevar após o início da lesão

tendo pouca sensibilidade e especificidade na avaliação de quadros agudos ou iniciais (DREXEL et al., 1983; MCCOMB et al., 1984; LEE e GOLDMAN, 1986; CAVALCANTI et al., 1998).

2.5 LACTATO

O lactato é um composto carbonado resultante do metabolismo de carboidratos, produzido em anaerobiose para ser utilizado como fonte de energia adicional ou substitutiva pelo organismo. É metabolizado pelos rins e fígado, podendo ser produzido fisiologicamente mesmo em homeostase, por eritrócitos, músculos esqueléticos, intestino e cérebro (BOSWOOD et al., 2008).

A principal fonte de energia para o organismo animal é a glicose, geralmente armazenada no fígado e nos tecidos musculares sob a forma de glicogênio. O metabolismo da glicose resulta na formação do piruvato, que poderá seguir cinco caminhos diferentes: lipogênese, formação de alanina, oxidação via ciclo de Krebs, gliconeogênese ou conversão em lactato (BARROSO et al., 2006).

2.5.1 Produção e Metabolismo

A quebra da molécula de glicose ou glicólise é o primeiro passo do metabolismo, que ocorre no citoplasma das células e resulta na produção de piruvato. O objetivo final do metabolismo da glicose é a produção de dois moles de adenosina trifosfato (ATP), para isso na conversão de glicose em piruvato ocorre à redução da enzima nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD^+) à nicotinamida adenina dinucleotídeo hidreto (NADH) com consequente produção de ATP (ALLEN e HOLM, 2008).

Sob condições aeróbias, o piruvato difunde-se para dentro da mitocôndria das células e, via ciclo de Krebs e fosforilação oxidativa, produz energia na forma de 36 moles de ATP, ocorrendo a oxidação do NADH para NAD^+ (ALLEN e HOLM, 2008).

Em células que não possuem mitocôndrias como os eritrócitos ou em condições anaeróbias o piruvato é convertido em lactato através da enzima lactato desidrogenase. O músculo esquelético e o trato gastrointestinal são os locais de maior produção de lactato, sendo que este poderá ser utilizado por órgãos como fígado e rins como substrato na própria gliconeogênese, resultando na formação de glicose através do ciclo de Cori (ALLEN e HOLM, 2008).

A única fonte de produção de energia durante períodos de hipóxia se dá pela glicólise, que gera muito menos energia quando comparada ao metabolismo aeróbio, no entanto é um processo mais rápido em comparação às vias aeróbias (ALLEN e HOLM, 2008; HUGHES, 2010).

Com a conversão do piruvato em lactato nas células em hipóxia, a razão lactato/piruvato aumenta. Os níveis de lactato intracelular se tornam aumentados e por mecanismos regulatórios osmóticos, o lactato atravessa a membrana celular e se difunde para o sangue (ALLEN e HOLM, 2008).

2.5.2 Causas de Hiperlactatemia

A hiperlactatemia é definida pela elevação da concentração de lactato no sangue, podendo ser um evento fisiológico e temporário como o que ocorre após o exercício, durante o período de recuperação muscular, ou pode ser um fenômeno mais duradouro, nos casos de doença grave (DIAS, 2010).

A bioquímica energética de mamíferos baseia-se na via aeróbia, mas em situações clínicas relacionadas ao estresse, a queda no aporte tecidual de oxigênio promove o metabolismo anaeróbio, ocorrendo grande consumo de energia e produção de lactato, levando à hiperlactatemia e acidose metabólica (BELETTINI et al., 2008). Mediante a persistência de condições anaeróbicas, os tecidos que anteriormente eram capazes de reciclar o lactato deixam de fazê-lo ocorrendo uma sobrecarga e conseqüente hiperlactatemia (DIAS, 2010).

A hiperlactatemia pode se diferenciar no tipo A e B, onde o tipo A ocorre quando há oferta insuficiente de oxigênio para os tecidos capaz de suprir a demanda, podendo ser causada por insuficiência cardíaca, tromboembolismo local, hipoxemia, anemia, exercício, choque hipovolêmico, cardiogênico e séptico. A hiperlactatemia do tipo B não está associada com a hipóxia tendo como causa a disfunção mitocondrial, ação de certos fármacos e toxinas, hipoglicemia e problemas na depuração, como insuficiência hepática ou renal (BELETTINI et al., 2008).

Outro fator que têm demonstrado elevações nos níveis de lactato são os quadros neoplásicos, que pode ser justificado pela ocorrência de alterações no metabolismo de carboidratos de animais com neoplasia, nos quais a glicose é o principal substrato para a produção de energia pelas células tumorais, de forma que o organismo acaba demandando de mecanismos anaeróbios para suprir suas necessidades (BARROSO et al., 2006).

Hughes (2010) evidenciou que a hiperlactatemia tipo B é infrequente na medicina veterinária e os quadros do tipo A ocorrem mais comumente por hipoperfusão. Além disso, também pode estar presente em decorrência de hipóxia tecidual relativa quando o requerimento energético excede a capacidade de metabolismo aeróbio, por exemplo, no exercício, tremor e convulsão.

Para avaliação clínica do valor sérico de lactato recomenda-se a utilização preferencial de sangue arterial ou venoso misto, pois avalia melhor a mistura das regiões em hipóxia, entretanto quando se opta pelo uso de sangue venoso periférico tem-se que ter em vista uma avaliação por região correspondente não sendo indicada como monitoração global (RABELO, 2005).

Estudos demonstraram uma grande variabilidade dos valores de referência para o lactato, sofrendo interferência do local de colheita, idade do paciente e técnica utilizada, por isso o ideal é que cada serviço clínico tenha padronização própria adequada a sua realidade (HUGHES et al., 1999; MCMICHAEL et al., 2005).

2.5.3 Lactato e Anemia

Alguns estudos de indução de quadro anêmico agudo por hemodiluição normovolêmica descrevem uma correlação entre o aumento da concentração sérica de lactato e a redução do VG, principalmente quando os níveis apresentam-se abaixo de 20% do volume globular (CUNNINGHAN, 1999; VAN DER LINDEN et al., 2003; DIBARTOLA, 2007). Estudo com seres humanos com redução normovolêmica da hemoglobina a valores de 5 g/dL não evidenciaram inadequada oxigenação dos tecidos através da avaliação da concentração sérica de lactato e VO_2 sistêmico mesmo com alterações eletrocardiográficas (WEISKOPF et al., 1998). Estudo na veterinária com cavalos anêmicos por diversas causas também demonstrou que apesar de uma redução dos níveis de lactato após procedimento de transfusão sanguínea, os resultados não revelaram correlação significativa entre anemia e níveis séricos de lactato (HURCOMBE et al., 2007).

Outro estudo com cães com anemia naturalmente adquirida avaliou lactato seriado como indicador prognóstico e observou que a porcentagem de pacientes que apresentaram hiperlactatemia no período da admissão, seis e vinte e quatro horas após a admissão foi de 50%, 16,9% e 13,2% respectivamente. Neste estudo inferiu-se que as concentrações isoladas de lactato não tiveram relação com a sobrevida dos pacientes, entretanto observou que os pacientes que apresentaram redução dos níveis de lactato igual ou

superior a 50% apresentaram maior sobrevida, indicando fator prognóstico da avaliação seriada de lactato (PINCELLI, 2012).

2.6 BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS

Diante de diversas situações patológicas ou quaisquer eventos que levem à injúria tecidual, com o propósito de restaurar a homeostase e remover a etiologia causadora do desequilíbrio, o organismo animal desenvolve rapidamente um conjunto complexo de alterações denominado resposta de fase aguda (RFA). Esta resposta consiste em uma condição de imunidade não específica do organismo e apresenta-se rapidamente, antecedendo ao estímulo do sistema imune adaptativo (CERÓN et al., 2005; DABROWSKI et al., 2007).

O surgimento da RFA, decorre principalmente de lesões teciduais, por causas infecciosas, imunológicas ou neoplásicas (CERÓN et al., 2005; MURATA et al., 2004) e promove diversos efeitos, locais e sistêmicos, no organismo, tais como mudanças nas funções metabólicas, endócrinas, neurológicas e variações nas concentrações de proteínas plasmáticas conhecidas como proteínas de fase aguda (PFA) (ECKERSALL, 2000; DABROWSKI et al., 2007).

As PFA são agentes de extrema importância para a resposta de fase aguda, são sintetizadas prioritariamente pelo fígado, porém ocorre também a produção extra-hepática por células epiteliais, endoteliais e tecido conectivo (JAIN et al., 2011). Após a lesão tecidual, uma resposta imediata é formada no local, ativando linfócitos TH2, macrófagos, fibroblastos e células endoteliais, que liberam citocinas pró-inflamatórias como a interleucina 1 (IL-1), interleucina 6 (IL-6), interleucina 8 (IL-8) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), as quais irão estimular os hepatócitos a produzirem e liberarem as PFA, ocasionando sua elevação na corrente sanguínea. O estímulo para a produção das PFA ocorre entre seis a oito horas após a agressão, e suas concentrações máximas são atingidas entre 24 a 48 horas após a estimulação (RODRIGUES, 2009).

Estas proteínas então seguem para o sítio da injúria tecidual, promovendo atuação local, enquanto outras atuam de forma sistêmica no organismo, ambas contribuindo para reestabelecer a homeostase e promover a limitação do crescimento microbiano. Algumas ainda são responsáveis pelo *feedback* negativo sobre a resposta inflamatória, inibindo citocinas pró-inflamatórias advindas da resposta de fase aguda. As PFA, portanto, em conjunto com as demais alterações, tem o papel de mediar o estado de inflamação do organismo (RODRIGUES, 2009).

Entre as principais proteínas de fase aguda temos fibrinogênio, plasminogênio, proteína S, proteína ligadora de lipopolissacarídeo (LPS), proteína C reativa (PCR), proteína sérica amiloide A (SAA), α -1 glicoproteína ácida (AGP), fibronectina, ferritina, proteínas do complemento, lectina ligadora de manose e angiotensinogênio. Essas proteínas terão funções pró e anti-inflamatórias e podem estimular ou inibir a produção umas das outras (NETO e CARVALHO, 2009).

2.6.1 Proteína C Reativa

Dentre essas proteínas de fase aguda, a que mais se destaca entre os estudos desta natureza é a proteína C reativa (PCR). A PCR foi a primeira PFA a ser descrita na literatura e sua descoberta ocorreu em humanos com pneumonia. Trata-se de uma molécula de 115 kDa, consiste de um polipeptídeo composto por cinco subunidades que pertence a família pentraxina e seu nome deriva de sua capacidade em vincular-se a polissacarídeos C de pneumococos, que destacou-se na ocasião da sua identificação (ABERNETHY, 1937; ANDERSON e MACCARTY, 1951). Essa proteína atua no processo inflamatório ligando-se e ativando linfócitos, que por sua vez, desencadeiam a ativação da via clássica do complemento. Desde a sua descoberta vem sendo utilizada pela medicina como um marcador extremamente sensível da inflamação e em humanos também é conhecida por sua utilização para diferenciar determinadas infecções virais de bacterianas e auxiliar no monitoramento do prognósticos dessas infecções (TIZARD, 2002).

Em medicina veterinária, a monitorização da resposta inflamatória ainda é um desafio clínico, pois os sinais da inflamação nem sempre se manifestam clinicamente. Sendo assim, a utilização de testes hematológicos e da bioquímica sérica, e nesse caso encaixa-se a mensuração de PFA como a proteína C reativa, pode ser necessária para diagnosticar doenças inflamatórias indiscerníveis (NOGUEIRA, 2002). Neste contexto, muitos avanços foram alcançados em relação à PCR e demais PFA nas últimas décadas, envolvendo o monitoramento de animais de companhia. A quantificação da concentração dessas proteínas no sangue revelou-se importante no estabelecimento do diagnóstico, prognóstico e acompanhamento do tratamento de doenças (MURATA et al., 2004). Isto se deve ao fato de que estas proteínas podem ser consideradas marcadores precoces de qualquer processo patológico, uma vez que suas elevações ocorrem antes das demais manifestações clínico-laboratoriais inflamatórias e infecciosas, como por exemplo febre, leucocitose (neutrofilia e monocitose) e aumento da taxa de hemossedimentação (JAIN, 1993, CERÓN et

al., 2005). Inclusive, destaca-se a importância da utilização destes testes para processos inflamatórios que não possam ser detectados pela contagem leucocitária, revelando grande funcionalidade do conhecimento das PFA na prática clínica. No caso especificamente da PCR em cães, sabe-se que o canino não responde tão bem com aumento de fibrinogênio em quadros inflamatórios agudos assim como os equinos e bovinos, sendo assim a proteína C reativa pode revelar-se realmente eficaz para a avaliação inflamatória nesta espécie (VECINA et al., 2006).

Desta forma, diversos pesquisadores têm realizado trabalhos envolvendo a mensuração da PCR em diferentes situações patológicas, procurando a elucidação da utilização desta proteína na prática clínica de animais de companhia. Nakamura e colaboradores (2008) demonstraram que a determinação da PCR pode contribuir para a detecção precoce de doenças em cães, visto que, como já mencionado anteriormente, o aumento na concentração dessa proteína ocorreu antes mesmo do início da manifestação clínica.

Estudos indicam a possibilidade diagnóstica de erliquiose precoce mesmo antes de outras alterações laboratoriais através dos níveis plasmáticos de PCR, quando estes estiverem elevados, revelando deste modo a funcionalidade diagnóstica desta proteína (RIKIHISA et al., 1994; SHIMADA et al., 2002 e MUNHOZ et al., 2009). Além disso, especificamente no caso da erliquiose, a mensuração da PCR pode inclusive ser usada para demonstrar o pico de parasitemia (SHIMADA et al., 2002; MUNHOZ et al., 2009).

Estudos realizados por Martínez-Subela e colaboradores (2003) e Matijatko e colaboradores (2007) envolvendo leishmaniose e babesiose em cães, respectivamente, corroboram com o estudo de Munhoz e colaboradores (2009), afirmando que a PCR pode ser usada não somente como fator preditivo, mas também tem a capacidade de informar a gravidade do processo patológico. Quanto mais grave o dano tecidual, maior é a resposta das proteínas de fase aguda.

Trabalhos ainda relatam a associação da PCR com a piometra em cadelas e afirmam que a mensuração desta proteína pode ser recomendada como exame coadjuvante para o diagnóstico da enfermidade (CARVALHO et al., 2008).

Avaliações da associação da PCR em cães com quadros hematológicos são restritas, entretanto estudos demonstram um aumento das concentrações séricas dessa PFA em pacientes com anemia hemolítica imunomediada (AHIM), apresentando importante fator prognósticos nesses casos, visto que a taxa de mortalidade foi superior nos animais que não

tiveram redução das concentrações séricas após o tratamento (TECLE ET AL., 2005; GRIEBSCH ET AL., 2009).

Semelhantemente como acontece com os quadros hematológicos, o conhecimento da relação das PFA em afecções cardiovasculares ainda são restritos, entretanto sabe-se que a PCR é um marcador extremamente sensível de inflamação sistêmica, assim em humanos esta proteína tem sido utilizada como fator preditor de doenças cardiovasculares, principalmente em doenças coronarianas e infarto agudo do miocárdio (DANESH et al., 2000; RIDKER et al., 2000).

Segundo Ljungvall et al., (2010) a PCR possui íntima relação com a lesão de miócitos uma vez que apresenta correlação positiva com as concentrações séricas de cTnI. Nos quadros de doença mixomatosa da válvula mitral (DMVM) em cães, o aumento das concentrações séricas de PCR e cTnI indicam que a lesão do miócito ocorre no processo de remodelação crônica, entretanto, observa-se que a PCR não possui correlação com a severidade do quadro patológico na DMVM, contrariamente ao que acontece com cTnI que apresenta concentrações séricas maiores a medida que o quadro se torna mais grave (OYAMA e SISSON, 2004; . SPRATT et al., 2005; LJUNGVALL et al., 2010).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar as concentrações séricas dos biomarcadores cardíacos e inflamatórios em diferentes graus de anemia naturalmente adquirida, e investigar associações das características físicas, hematológica, bioquímicas, eletrocardiográficas e pressão arterial sistólica quanto à severidade da anemia.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Avaliar o quadro clínico de cães com diferentes graus de anemia;
- b) Analisar as alterações cardíacas por meio dos biomarcadores cardíacos e eletrocardiograma causadas por diferentes tipos e graus de anemias em cães;
- c) Verificar a eficiência de marcadores cardíacos como método diagnóstico de alterações cardiovasculares causadas pela hipóxia anêmica;
- d) Verificar a correlação de exames bioquímicos com o quadro de hipóxia tecidual em decorrência aos diferentes graus de anemias;
- e) Avaliar os níveis séricos da proteína C reativa em cães com diferentes graus de anemia naturalmente adquiridas;
- f) Correlacionar o processo inflamatório com quadro anêmico;
- g) Estabelecer uma possível correlação entre as elevações séricas da proteína C reativa com a severidade da anemia.

4. ARTIGO A:

Artigo formatado conforme as normas para publicação da Revista Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.

UTILIZAÇÃO DE BIOMARCADORES NA AVALIAÇÃO DE LESÃO CARDÍACA EM CÃES COM ANEMIA NATURALMENTE ADQUIRIDA.

BIOMARKERS FOR USE IN THE ASSESSMENT OF CARDIAC INJURY IN DOGS WITH ANEMIA NATURALLY ACQUIRED.

W.G. Suhett^{1*}, V.P. Cechetti², D.Venturini³, P.M. Pereira⁴

RESUMO

A anemia é uma alteração clínica relacionada à menor oxigenação dos tecidos. A mensuração de biomarcadores de lesão miocárdica tais como as troponina I, mioglobina e creatina fosfoquinase têm sido empregadas a fim de avaliar hipóxia e isquemia. Este trabalho objetiva estabelecer a relação dos diferentes graus de severidade da anemia com a lesão cardíaca, através da avaliação de biomarcadores. Foram avaliados 108 cães anêmicos acometidos por diferentes enfermidades, divididos em quatro grupos de acordo com os graus de intensidade da anemia: G1 – volume globular (VG) entre 21,1 e 36%, G2 - VG entre 16,1 e 21%, G3 - VG entre 10,1 e 16%, G4 - VG igual ou abaixo de 10% e 30 cães saudáveis, sendo estes utilizados como grupo controle. Os animais foram submetidos à avaliação hematológica, bioquímica, eletrocardiográfica e mensuração de biomarcadores. Os resultados mostraram que a proteína total, a albumina e a fosfatase alcalina foram significativos quando comparados com o grau de intensidade da anemia, porém apenas a albumina apresentou valores abaixo da normalidade. O eletrocardiograma evidenciou que 34,05% (47/138) dos animais apresentaram uma ou mais alterações possíveis de serem encontrada nos casos de hipóxia miocárdica. Entre os marcadores cardíacos obteve diferença significativa entre os grupos a creatina fosfoquinase (CK) e troponina I, enquanto a mioglobina e creatina fosfoquinase MB (CKMB) não demonstram diferenças significativas. Entretanto, apesar da significância estatística, a CK total sérica não apresentou validade clínica uma vez que os seus valores mantiveram-se dentro dos níveis de referência para a espécie. A troponina I evidenciou valores maiores à medida que o volume globular reduzia, assim a mediana do grupo de anemia muito grave foi 0,385 ng/mL, bem acima do valor da mediana do grupo controle que apresentou mediana 0,04 ng/mL. Concluímos que existe correlação entre os diferentes graus de anemia com a presença de lesão cardíaca e o marcador mais eficaz para esta análise foi a troponina I.

Palavras-chave: Troponina. Hipóxia. Creatina quinase. Mioglobina. Anemia

¹ Mestrando do programa de Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina – UEL. weslemsuhett@gmail.com

² Aluno de graduação em medicina veterinária da Universidade Estadual de Londrina – UEL

³ Professora Adjunto do curso de farmácia da Universidade Estadual de Londrina – UEL

⁴ Professora Associada do curso de medicina veterinária da Universidade Estadual de Londrina – UEL

ABSTRACT

Anemia is a clinical change related to lower tissue oxygenation. Measurement of myocardial injury biomarkers such as troponin I, myoglobin, creatine kinase and lactate have been used to assess hypoxia and ischemia. This study aims to establish the correlation of different degrees of severity of anemia with cardiac injury by evaluating biomarkers to aid the clinician in therapeutic decision-making of anemic patients. We evaluated 108 anemic dogs affected by different diseases, divided into four groups according to the degree of intensity of anemia: G1 globular-volume (VG) between 21.1 and 36%, G2 - VG between 16.1 and 21%, G3 - VG between 10.1 and 16%, G4 - VG equal to or below 10% and 30 healthy dogs, which are used as controls. The animals were hematologic evaluation, biochemistry, biomarkers and ECG. The results showed that total protein, albumin and alkaline phosphatase were significant when compared with the intensity of anemia, but only albumin showed values below normality. The electrocardiogram showed that 34.05% (47/138) of the animals had one or more changes can be found in cases of myocardial hypoxia. Among the cardiac markers achieved significant results in creatine kinase assessment (CK) and troponin I, myoglobin while and creatine kinase MB (CK-MB) did not show significant differences between the groups. However although the statistical significance, the total serum CK has no clinical value since the values were within the reference range for the species. Troponin I showed higher values as the packed cell volume reduced, so the median of very severe anemia group was 0.385 ng / ml, well above the control group whose median 0.04 ng / mL. We conclude that there is a correlation between the different degrees of anemia with the presence of cardiac disease and the marker that has been shown more effective for this analysis was Troponin I.

Key words: Troponin. Hypoxia. Creatine kinase. Myoglobin. Anemia

INTRODUÇÃO

A anemia corresponde à diminuição da quantidade de hemácias, resultando em menor oxigenação tecidual. Ela pode ser causada por hemólise, perda de sangue decorrente de hemorragia, menor produção de hemácias ou pela associação de alguns desses eventos (THRALL, 2006). Segundo Carson *et al.* (1996), a anemia e afecções cardiovasculares quando ocorrem em conjunto, são fatores impactantes nos índices de mortalidade e morbidade.

A anemia pode ser uma das causas de mionecrose no tecido cardíaco em consequência da diminuição de oxigênio circulante, pois sabe-se que nos quadros hemorrágicos ocorre diminuição do volume de sangue circulante, comprometendo o fornecimento de oxigênio e nutrientes para o músculo cardíaco (CARSON *et al.*, 1996). A lesão cardíaca por hipóxia pode causar alterações clínicas, eletrolíticas, bioquímicas e até mesmo elétricas. O início de tais alterações ocorre a nível celular, desta forma, o uso de uma avaliação mais precisa e precoce

na detecção dos danos cardíacos é realizada hoje pelos biomarcadores cardíacos (SHINDE *et al.*, 2004).

Atualmente os principais biomarcadores cardíacos são a mioglobina, creatina fosfoquinase (CK) e sua isoenzima creatina fosfoquinase MB (CKMB) e troponina (FERNÁNDEZ *et al.*, 2012).

A mioglobina é uma hemoproteína encontrada no músculo cardíaco e esquelético, sem proteína de ligação plasmática específica e que é filtrada livremente pelo glomérulo. Seu peso molecular bastante baixo permite que seja um dos primeiros marcadores séricos identificáveis após lesão isquêmica do miocárdio (MARKS, 1971; GILKESON *et al.*, 1978; MCCOMB *et al.*, 1984; CAVALCANTI *et al.*, 1998; ROSA *et al.*, 2005). Por apresentar um metabolismo hepático e excreção renal rápidos, a mioglobina é um marcador de necrose muscular pouco sensível, tendo sua concentração sérica normalizada uma a seis horas após o fim da lesão (LOPEZ *et al.*, 1995; VANHOLDER *et al.*, 2000; ROSA *et al.*, 2005).

A creatina fosfoquinase (CK) e sua fração MB (CKMB) são amplamente utilizadas na avaliação do infarto agudo do miocárdio em seres humanos (CAVALCANTI *et al.*, 1998). No cão, a CK está presente principalmente na musculatura esquelética, miocárdio, cérebro e intestino (AKTAS *et al.*, 1993). O aumento da atividade sérica da CKMB tem sido relatado em cães com comprometimento miocárdico secundário à dirofilariose, endocardite e cardiomiopatia hipertrófica e trauma (AKTAS *et al.*, 1993; DINIZ *et al.*, 2007; PINO *et al.*, 2008).

A troponina é o biomarcador de escolha mais indicado para a detecção de lesão cardíaca, sendo a troponina cardíaca-I (cTnI) um marcador sensível e específico de lesão no miocárdio (SPRATT *et al.*, 2005). Pode ser detectada no plasma por meio de técnicas de imunoensaio. Suas características são conhecidas, sendo de grande importância como diagnóstico diferencial, indicadores de processos biológicos normais, processos patogênicos fornecendo informações sobre a extensão da lesão e o prognóstico (OYAMA e SISSON, 2004; BOSWOOD *et al.*, 2008). A troponina I torna-se mensurável três a quatro horas após o início da lesão (FISHBEIN *et al.*, 1981; GODOY *et al.*, 1998). Em cães a troponina cardíaca vem sendo analisada em várias afecções como: trauma torácico, torção gástrica, arritmias cardíacas, cardiomiopatias entre outras (O'BRIEN *et al.*, 1997; NUNES 2001; SCHOBBER 2002; DINIZ *et al.*, 2007; SANTOS *et al.*, 2011).

Portanto, os diferentes biomarcadores tem gerado perspectiva de evolução na conduta clínica de pacientes com lesão cardíaca, trazendo informações complementares a avaliações rotineiras como o eletrocardiograma e o ecocardiograma (ADANS *et al.*, 1993; SPRATT *et*

al., 2005). Com o uso destes, torna-se mais precoce a avaliação de possíveis lesões cardíacas em pacientes anêmicos de forma a promover a escolha adequada de um tratamento emergencial e a indicação do prognóstico enquanto se estabelece a causa da anemia e o diagnóstico da doença primária (THRALL, 2006).

O objetivo deste estudo foi através das dosagens dos biomarcadores cardíacos, detectar lesões em miocárdio causadas por hipóxia em cães com vários graus de anemia naturalmente adquiridas e investigar associações das características físicas, hematológica, bioquímicas, eletrocardiográficas e pressão arterial sistólica quanto à severidade da anemia.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliados 108 cães anêmicos, acometidos por diferentes enfermidades, atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina e 30 cães saudáveis, com os valores hematológicos, bioquímicos e eletrocardiográficos dentro dos índices de referência, sendo estes utilizados como grupo controle.

Os cães foram divididos em cinco grupos (G) de acordo com a severidade da anemia: G1 – cães com VG entre 21,1 e 36% (anemia leve), G2 - cães com VG entre 16,1 e 21% (anemia moderada), G3 - cães com VG entre 10,1 e 16% (anemia grave), G4 - cães com VG igual ou abaixo de 10% (anemia muito grave) e Gc - cães hígidos (grupo controle) (TVEDTEN e WEISS, 2000; WEISS e WARDROP, 2010, LAUSCHER *et al.*, 2011).

O estudo avaliou 138 animais apresentando a seguinte composição: G1 41 animais (29,7%), G2 24 animais (17,4%), G3 23 animais (16,6%), G4 20 animais (14,6%) e Gc 30 animais (21,7%).

Os grupos foram formados por cães sem restrição quanto à raça ou sexo, apresentando idade entre dois (2) e dez (10) anos, peso superior ou igual a cinco (5) quilogramas. Foram excluídos do estudo pacientes que no momento da admissão ou posteriormente apresentasse histórico ou sinais clínicos compatíveis com doença cardiovascular primária, doenças pulmonares e neoplásicas, bem como quadros hemorrágicos por trauma.

Os animais foram submetidos à avaliação física, aferição da pressão arterial, avaliação eletrocardiográfica e colheita de sangue por venopunção jugular para realização de exames laboratoriais. Pacientes que estavam desidratados ao exame físico só foram submetidos à colheita de material biológico após hidratação por um período máximo de 48 horas. Pacientes

com desidratação superior a 7%, mesmo após fluidoterapia por período de 48 horas da admissão, foram excluídos do estudo.

No exame físico foram realizadas aferições da frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), temperatura retal (T°C), pulso, coloração de mucosas, tempo de preenchimento capilar (TPC), estado de hidratação, auscultação cardiopulmonar e palpação abdominal.

Na avaliação eletrocardiográfica os cães foram posicionados em decúbito lateral direito recebendo um eletrodo acoplado em cada membro locomotor, permitindo a obtenção do traçado eletrocardiográfico. Os traçados eletrocardiográficos foram obtidos por eletrocardiógrafo computadorizado (Tecnologia Eletrônica Brasileira - TEB[®], Brasil), registrados nas derivações bipolares I, II e III e unipolares aVL, aVF e aVR, na velocidade de 50 mm/segundo, sendo as medidas mensuradas na DII e os registros arquivados em microcomputador (TILLEY, 1992).

Na avaliação dos tempos de onda P e do complexo QRS em segundos, existem diferenças dos valores de referência concernente ao tamanho do animal. Assim para minimizar a interferência do porte do animal foi utilizado o cálculo da diferença percentual das medidas de tempo destas deflexões, onde o valor inicial adotado foi o de referência presente na literatura conforme o peso do animal e o valor final utilizado foi o medido no momento da avaliação eletrocardiográfica.

A pressão arterial foi obtida por mensuração não invasiva com aparelho oscilométrico (Microem[®], Brasil). Os cães foram mantidos em decúbito lateral direito, com manguito de largura correspondente a aproximadamente 40% da circunferência do membro torácico, colocado na região distal do rádio e ulna. Foram obtidas cinco determinações e os valores limítrofes superiores e inferiores descartados para a obtenção de média mais acurada (MUCHA e CAMACHO, 2003).

Na avaliação laboratorial, foram realizados hemograma, dosagem dos biomarcadores cardíacos e bioquímica sérica convencional. As contagens de eritrócitos, volume globular médio, volume globular, hemoglobina, leucócitos e plaquetas foram realizadas por método automático (BC2800vet Auto Hematology Analyzer[®], Mindray, China). A avaliação diferencial de leucócitos e a contagem de reticulócitos foram realizadas por microscopia óptica.

Os exames bioquímicos séricos incluídos no experimento foram a proteína total, albumina, creatinina, uréia, alanina amino transferase (ALT), fosfatase alcalina (FA), ferro, glicose e lactato, também foram avaliados os biomarcadores cardíacos mioglobina, CK, CKMB e

troponina, todos por metodologia padronizada, sendo quando necessário a utilização de kits comerciais para a quantificação das concentrações ou atividades séricas por meio do equipamento automático Dimension[®] clinical chemistry system (Siemens, Alemanha).

Na dosagem de mioglobina foi utilizada a técnica de imunoenensaio enzimático de dois passos, onde a amostra é incubada com partículas de dióxido de cromo revestidas com anticorpos monoclonais específicos para a mioglobina, para formar um complexo partícula/mioglobina (BIRKMEYER *et al.*, 1987). A troponina I de forma semelhante foi submetida a um imunoenensaio enzimático de um passo, onde a amostra é incubada com partículas de dióxido de cromo revestidas com anticorpos monoclonais específicos para a troponina I cardíaca (OBZANSKY *et al.*, 1991). A creatina fosfoquinase e sua isoforma MB foram quantificadas através de metodologia de reação enzimática acoplada (SIEKMANN *et al.*, 2002).

Os resultados foram submetidos à análise estatística pelo programa estatístico R. Foram realizadas comparações entre os dados obtidos dos cães entre os diferentes graus de anemia. As variáveis categóricas foram apresentadas como mediana e porcentagens. Os dados obtidos quando não paramétricos foram submetidos aos testes de Kruskal Wallis e Correlação de Spearman e os resultados paramétricos foram submetidos ao teste Exato de Fisher. Para todas análises estatísticas foram adotadas o nível de significância de 5%.

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA/UEL) pelo processo nº 8393201305

RESULTADOS

Dos 138 cães participantes do estudo as raças mais frequentes foram pit bull (n=10), poodle (n=8), labrador (n=7), boxer (n=5), golden (n=5) e rottweiler (n=5). Também participaram 67 cães sem raça definida e mais 31 cães de outras raças. Destes 71 eram fêmeas e 67 eram machos. A idade média dos animais foi de $7,14 \pm 2,28$ anos, encontrando todos os cães dentro dos limites estabelecidos, bem como o peso médio de $17,58 \pm 7,75$ Kg.

No exame físico observou-se que 90 animais estavam hidratados e 48 apresentavam desidratação leve (7%), divididos da seguinte forma G1 (n=12), G2 (n=15), G3 (n=11) e G4 (n=10).

Embora, dentro dos limites de normalidade para cães, a frequência cardíaca, frequência respiratória e temperatura retal apresentaram correlação com o quadro anêmico ($p < 0,05$), sendo que a frequência cardíaca apresentou valores maiores no grupo da anemia grave quando

comparada com o grupo controle, inversamente proporcional ao que ocorreu com a temperatura e frequência respiratória que obtiveram valores maiores no grupo controle quando comparados ao grupo anemia grave (Tab. 1).

A pressão arterial não estava alterada entre os grupos, de forma que animais do grupo controle, anemia leve, anemia moderada e anemia muito grave obtiveram os mesmos valores medianos de 140 mmHg, enquanto que os animais com anemia grave apresentaram valor mediano de 160 mmHg.

Tabela 1 – Mediana, interquartil e posto médio dos valores da frequência cardíaca (FC), da frequência respiratória (FR), temperatura retal (TR) e pressão arterial sistólica (PAS) dos cães anêmicos (G1, G2, G3 e G4) e grupo controle (Gc), sendo G1 – Grupo de anemia leve, G2 – Grupo anemia moderada, G3 – Grupo anemia grave e G4 – Grupo anemia muito grave. UEL, Londrina, PR, 2015.

Variável	Gc (n=30)	G1 (n=41)	G2 (n=24)	G3 (n=23)	G4 (n=20)	P Valor
FC (bpm)	115 ^a (100 -124) 54,17	120 ^a (100 -138) 65,02	120 ^a (104 – 131) 64,69	120 ^{ab} (111 -150) 75,93	140 ^b (126 – 151) 96,37	<0,004
FR (mpm)	60 ^a (51-100) 101,77	40 ^b (28-60) 69,41	24 ^{bc} (20-49) 53,43	20 ^c (20-40) 43,20	38 ^{bc} (24-46) 66,57	<0,001
TR (°C)	38,85 ^a (38,5-39,1) 92,78	38,2 ^b (37,9-38,8) 64,46	38,1 ^b (37,7-38,6) 61,63	38,1 ^b (37,7-39,0) 63,83	37,9 ^b (37,1-38,6) 57,05	<0,001
PAS (mmHg)	140 (120-160)	140 (120-160)	140 (115-155)	160 (130-200)	140 (125-162)	0,351

Análises estatísticas pelo testes de Kruskal Wallis. As letras referem-se a comparação dos postos médios pelo teste Student-Newman-Keuls.

Os valores hematológicos foram utilizados para diagnosticar o grau da anemia, bem como entender se os parâmetros acompanham as tendências de gravidade representadas pelo volume globular em seus diferentes níveis (Tab. 2).

Tabela 2 - Resultados da avaliação hematológica expresso por suas medianas, interquartis, postos médios e valor de P do teste de Kruskal-Wallis dos cães anêmicos (G1, G2, G3 e G4) e grupo controle (Gc), sendo G1 – Grupo de anemia leve, G2 – Grupo anemia moderada, G3 – Grupo anemia grave e G4 – Grupo anemia muito grave. UEL, Londrina, PR, 2015.

Variável	Gc (n=30)	G1 (n=41)	G2 (n=24)	G3 (n=23)	G4 (n=20)	P valor	VR*
HE* (x10 ⁶ /μL)	6,61 ^a (6,17–7,48)	4,44 ^b (3,9–4,87)	3,17 ^c (2,85–3,35)	2,3 ^{cd} (2–2,43)	1,55 ^d (1,13–1,69)	<0,001	5,5 – 8,5
HGB* (g/dL)	115,3 13,15 ^a (12,1–14,6)	80,72 8,6 ^b (7,6–9,5)	53,76 5,4 ^c (5,1–5,8)	31,75 4,2 ^{cd} (3,6–4,6)	12,10 2,3 ^d (1,9–2,7)	<0,001	12 – 18
VG* (%)	121,92 41,7 ^a (39,2–45,7)	87,23 27 ^b (24,2–30)	53,17 18,7 ^c (18–19,6)	32,89 14,3 ^d (13,4–15)	11,97 8,55 ^d (7,3–9,5)	<0,001	36 - 55
VCM (fL)	63,2 (60 – 64,9)	61,2 (60 – 65,2)	62,2 (53,7–65,3)	61,4 (58,8–64)	59,8 (55,4–64)	0,328	60 – 77
HCM (pg)	19,85 ^a (19–20,2)	19,45 ^{ab} (18,6–20)	18,5 ^c (15,6–19,2)	18,3 ^{bc} (17,3–20)	17,3 ^c (15–19,5)	<0,001	19 – 23
CHCM (%)	87,77 31,05 ^a (30–33)	78,51 31,2 ^{ab} (30,2–32,6)	53,63 29,1 ^c (28–29,8)	64,11 29,3 ^c (26,6–33)	45,8 27,15 ^c (26,2–29,8)	<0,001	32 – 36
Ret Abs** (x10 ³ /μL)	87,27 16,8 ^a (4–56,62)	84,89 17,36 ^{ab} (6,2–56,62)	50,54 70,545 ^{bc} (17,95–149,9)	56,76 43,36 ^{abcd} (19–89,59)	44,32 6,84 ^{ab} (1,6–30,17)	0,049	>60
Leucócitos (μL)	48,27 7750 ^a (6117–9672)	58,13 14625 ^b (10242–21850)	73,06 13400 ^{bc} (9350–18161)	60,64 11612 ^b (9107–31637)	78,02 16319 ^b (5950–27150)	<0,001	6000 – 17000
Seg Abs (μL)	38,71 5714 ^a (4827–7167)	75,46 12860 ^b (7881–20450)	60,64 11612 ^b (8600–15740)	78,02 16319 ^b (7134–27051)	53,55 9675 ^b (6174–28783)	<0,001	3000 – 11500
Linf Abs (μL)	34,57 1221 ^a (861–1882)	74,32 1580 ^{ab} (1078–2140)	65,17 606 ^c (378–1222)	81,02 1097 ^{abd} (659–2261)	69,25 687 ^{acd} (407–1812)	<0,001	1000 - 4800
Plaquetas (x10 ³ /μL)	69,25 380 ^a (312–410)	79,43 336 ^a (90–520)	40,34 264 ^a (15–476)	67,86 305 ^a (1–423)	52,96 113 ^b (7,2–367)	0,002	>200
	78,33	80,58	63,46	63,47	40,3		

As letras referem-se a comparação dos postos médios pelo teste Student-Newman-Keuls. *VR – Valores de referência baseados em Thrall et al. (2006), HE – Hemácias, HGB – Hemoglobina, VG – Volume globular.

** Contagem absoluta de reticulócitos, onde o valor de referência serve apenas como base para a diferenciação entre anemia arregenerativa e regenerativa nos grupos anêmicos.

Entre as avaliações bioquímicas séricas convencionais somente a proteína total, albumina e fosfatase alcalina demonstraram diferenças significativas entre os grupos. A proteína total apesar de apresentar diferenças entre os grupos e demonstrar uma tendência de redução dos seus valores medianos em relação à severidade da anemia, não apresentou diferenças contundentes quanto a severidade da anemia quando comparado nos diferentes grupos, entretanto observa-se uma redução da mediana de albumina abaixo dos valores de normalidade em todos os grupos anêmicos, sendo progressivo com o grau de intensidade da anemia, onde observa-se diferença significativa entre animais não anêmicos e anêmicos. A fosfatase alcalina apresentou-se superiores nos pacientes anêmicos quando comparados aos

não anêmicos, entretanto não houve diferença em relação a severidade do quadro anêmico. (Tab. 3).

Tabela 3 – Resultados dos valores dos exames bioquímicos expresso por suas medianas, interquartis, postos médios e valor de P do teste de Kruskal-Wallis dos cães anêmicos (G1, G2, G3 e G4) e grupo controle (Gc), sendo G1 – Grupo de anemia leve, G2 – Grupo anemia moderada, G3 – Grupo anemia grave e G4 – Grupo anemia muito grave. UEL, Londrina, PR, 2015.

VARIÁVEL	Gc (n=30)	G1 (n=41)	G2 (n=24)	G3 (n=23)	G4 (n=20)	P valor	VR*
Ureia (mg/dL)	33 (27,2-38)	48 (31-91)	31 (23-112,5)	67 (22,5-173,5)	38 (24-106,5)	0,357	22 – 60
Creatinina (mg/dL)	1,0 (1-1,2)	1,4 (0,9-1,9)	1,1 (0,9-2,4)	1,1 (0,7-4,5)	0,9 (0,7-1,6)	0,282	0,5 – 1,6
ALT (U/L)	47 (31-55)	59,5 (29,7-95)	49 (34,5-88)	70 (36,7-148,7)	59 (27,7-148)	0,711	17 – 87
FA (U/L)	52 ^a (39-75,2) 35,55	118 ^b (70,7-210) 72,06	145 ^b (78,7-210) 78,88	113 ^b (60-365) 74,32	186 ^b (80-300) 80,42	<0,001	12 – 110
PT (g/dL)	6,9 ^a (6,5-7,3) 84,96	6,55 ^b (5,8-7,4) 73,83	6,25 ^c (5,4-7,4) 63,93	6 ^{bcd} (5,1-7) 56,67	5,65 ^{bcd} (5,2-6,5) 48,37	0,011	6,0 – 8,0
Albumina (g/dL)	2,8 ^a (2,5-3,1) 53,27	2 ^b (1,7-2,3) 37,16	1,55 ^c (1,1-1,8) 18,75	1,9 ^{bc} (1,5-1,9) 25,20	1,5 ^{bc} (1,2-1,9) 26,62	0,021	2,1 – 4,3
Globulina	3,8 (3,0-4,0)	4,0 (3,0-4,0)	4,2 (3,0-5,0)	4,4 (3,0-5,0)	4,05 (3,0-5,0)	0,512	2,7 – 4,4
Lactato (mmol/L)	3,6 (2,8-4,2)	3,05 (2-3,9)	2 (1,4-3,4)	2,9 (1,4-4)	2,95 (1,6-5,2)	0,285	0,22 – 1,44
Glicose (mg/dL)	102 (98-110)	99 (89-114)	102 (80-114)	101 (91-109)	96,5 (83-117)	0,741	70 – 110

As letras referem-se a comparação dos postos médios pelo teste Student-Newman-Keuls. *VR – Valores de referência baseados em Thrall et al. (2006) e Kaneko et al. (1998).

As medianas de lactato não demonstraram diferenças estatísticas entre os grupos, sendo que em todos os grupos, inclusive o grupo controle apresentaram valores acima dos níveis de normalidade para cães de 0,22 a 1,44 mmol/L (Tab. 4) (KANEKO *et al.*, 1998).

A avaliação do traçado eletrocardiográfico momentâneo evidenciou que 34,05% (47/138) dos animais apresentaram uma ou mais alterações possíveis de serem encontradas nos casos de hipóxia. As alterações encontradas foram taquicardia sinusal 11,59% (16/138), infradesnível de seguimento ST 1,44% (02/138), amplitude de onda T maior que um quarto de R 34,05%

(47/138), extrassístole ventricular 5,7% (08/138) e extrassístole atrial 2,1% (03/138), sendo que em nenhum desses fatores houve diferença significativa entre os grupos (Tab. 4).

Tabela 4 – Ocorrência alterações eletrocardiográficas sugestivas de hipóxia em cães anêmicos (G1, G2, G3 e G4) e grupo controle (Gc), sendo G1 – Grupo de anemia leve, G2 – Grupo anemia moderada, G3 – Grupo anemia grave e G4 – Grupo anemia muito grave. UEL, Londrina, PR, 2015.

Variáveis	Taquicardia	Infradesnível	T>25%R	VPC*	APC**
Gc	2	0	8	0	0
G1	6	1	13	3	1
G2	1	0	8	1	1
G3	4	1	11	2	1
G4	3	0	7	2	0
TOTAL	16	2	47	8	3
%	11,59	1,44	34,05	5,7	2,1
P valor	0,5992	0,7629	0,505	0,3857	0,8057

Análises estatísticas pelo teste de Kruskal Wallis. *CVP – complexo ventricular prematuro. **CAP - complexo atrial prematuro

Com relação às avaliações de amplitude e tempo observou diferença significativa entre os grupos somente em amplitude de onda R com pequena importância clínica uma vez que as medianas de todos os grupos encontram-se dentro dos valores de normalidade (tab. 5).

Tabela 5 – Medianas, postos médios e interquartis de amplitude e tempo das diferentes deflexões e segmentos no traçado eletrocardiográfico dos cães anêmicos (G1, G2, G3 e G4) e grupo controle (Gc), sendo G1 – Grupo de anemia leve, G2 – Grupo anemia moderada, G3 – Grupo anemia grave e G4 – Grupo anemia muito grave. UEL, Londrina, PR, 2015.

VARIÁVEIS	GC	G1	G2	G3	G4	P valor	VR*
P (seg)	0,04 (0,04-0,05)	0,045 (0,04-0,05)	0,04 (0,04-0,05)	0,05 (0,04-0,05)	0,047 (0,04-0,05)	0,291	< 0,04 RP* <0,05 RG*
DPP (%)**	20 (23,7-20)	0 (20-0)	0 (20-0)	0 (10,5-20)	0 (0-21,5)	0,09	---
P (µV)	0,22 (0,19-0,28)	0,2 (0,15-0,28)	0,17 (0,12-0,22)	0,18 (0,16-0,21)	0,14 (0,13-0,20)	0,06	<0,4
PR (seg)	0,1 (0,09-0,11)	0,11 (0,09-0,12)	0,11 (0,08-0,12)	0,1 (0,08-0,11)	0,1 (0,09-0,12)	0,541	0,06 - 0,13
QRS (seg)	0,04 (0,04-0,05)	0,05 (0,04-0,05)	0,04 (0,04-0,05)	0,05 (0,04-0,05)	0,04 (0,03-0,05)	0,943	< 0,05 RP* <0,06 RG*
DPQRS (%)***	33 (50-16)	16 (33-16)	20 (33-16)	16 (35,5-2,5)	20 (52,5-19)	0,06	---
R (µV)	1,53 ^a (1,09-1,7) 71,5	1,23 ^{ab} (0,89-1,79) 72,81	0,8 ^c (0,59-1,15) 45,84	1,16 ^{abcd} (0,79-1,43) 60,6	0,67 ^{cd} (0,61-1,15) 45,55	0,002	<2,5
QT (seg)	0,19 (0,17-0,2)	0,2 (0,18-0,22)	0,21 (0,19-0,22)	0,19 (0,18-0,21)	0,2 (0,18-0,21)	0,162	0,15 - 0,25

Análises estatísticas pelo testes de Kruskal Wallis, onde as letras referem-se a comparação dos postos médios pelo teste Student-Newman-Keuls. VR* - Valor de referência baseado em Tilley (1992). RP – Referência para animais de pequeno porte. RG - Referência para animais de grande porte. DPP (%)** - Diferença percentual de tempo de onda P. DPQRS (%)*** - Diferença percentual de tempo de complexo QRS

Entre os biomarcadores cardíacos obteve resultados significativos na avaliação de CK e troponina I, enquanto mioglobina e CKMB não demonstraram diferenças estatísticas entre os grupos anêmicos (Tab. 6).

Tabela 6 – Medianas, postos médios e interquartis dos valores séricos dos biomarcadores cardíacos dos cães anêmicos (G1, G2, G3 e G4) e grupo controle (Gc), sendo G1 – Grupo de anemia leve, G2 – Grupo anemia moderada, G3 – Grupo anemia grave e G4 – Grupo anemia muito grave. UEL, Londrina, PR, 2015.

Variáveis	GC (n=30)	G1 (n=41)	G2 (n=23)	G3 (n=24)	G4 (n=20)	P valor	VR*
	96 ^a	172 ^b	146 ^b	198 ^b	215 ^b		
CK (UI/L)	(68,5-136,5)	(96,0-350)	(92-293)	(139-354)	(127,7-377,2)	0,003	50 -250
	44,63	71,45	69,52	80,08	81,69		
CKMB (UI/L)	111,5	155,5	122,0	178,5	166,0	0,327	11,0 – 38,8
	(76,5-133)	(90,5-261,5)	(81-212)	(87,25-254,2)	(82-245)		
cTnI (ng/mL)	0,04 ^a	0,09 ^b	0,13 ^c	0,2 ^d	0,385 ^d	<0,001	<0,07
	(0,02-0,05)	(0,02-0,67)	(0,05-1,08)	(0,05-1,04)	(0,17-1,5)		
MIO (mg/dL)	1	0	0,5	0	1	0,248	<20

Análises estatísticas pelo testes de Kruskal Wallis, onde as letras referem-se a comparação dos postos médios pelo teste Student-Newman-Keuls. VR* - Valor de referência

A creatina quinase (CK) total apresentou mediana de 96 UI/L no grupo controle, onde somente um cão apresentou valor superior aos níveis de referência para a espécie. A mediana de CK nos grupos de anemia leve, anemia moderada, anemia grave e anemia muito grave foram respectivamente 172 UI/L, 146 UI/L, 198 UI/L e 215 UI/L, onde 31,7% (13/41), 33,33% (08/24), 34,78% (8/23) e 45% (9/20) apresentaram valores superiores aos níveis de referência para a espécie de 50 a 250 UI/L segundo Thrall *et al.* (2006) (Fig. 1).

Já a CKMB a mediana em UI/L apresentada respectivamente por cada grupo foi Gc=111,5, G1=155,5, G2= 126,0, G3=172,0, G4= 179,0, sendo que 16,66% (5/30), 26,82% (11/41), 29,16% (07/24), 26,08% (6/23) e 25% (5/20) são as porcentagens de animais em cada grupo que apresentaram resultados acima do valor de referência de 11 a 38,8 UI/L segundo (LOPES *et al.*, 2005) (Fig 1B).

Na quantificação sérica da mioglobina todos os animais apresentaram valores inferiores a 2 mg/dL valores estes muito inferiores aos valores de referência (<20 mg/dL) segundo Thrall *et al.* (2006). Na avaliação da troponina I cardíaca foi evidenciado valores maiores à medida que o volume globular reduzia, assim, a mediana do grupo de anemia muito grave foi 0,385 ng/mL, sendo este valor 9,6 vezes maior do que a mediana do grupo controle (0,04 ng/mL). Quando comparado com os valores de referência para cães (<0,07 ng/mL), observamos que a mediana do grupo controle encontrava-se dentro dos valores de referência (SLEEPER, *et al.*, 2011). Os grupos de anemia leve, moderada e grave também apresentaram valores medianos

acima dos valores de normalidade para cães, sendo os resultados 0,09 ng/mL, 0,13 ng/mL e 0,2 ng/mL, respectivamente (Fig. 1C).

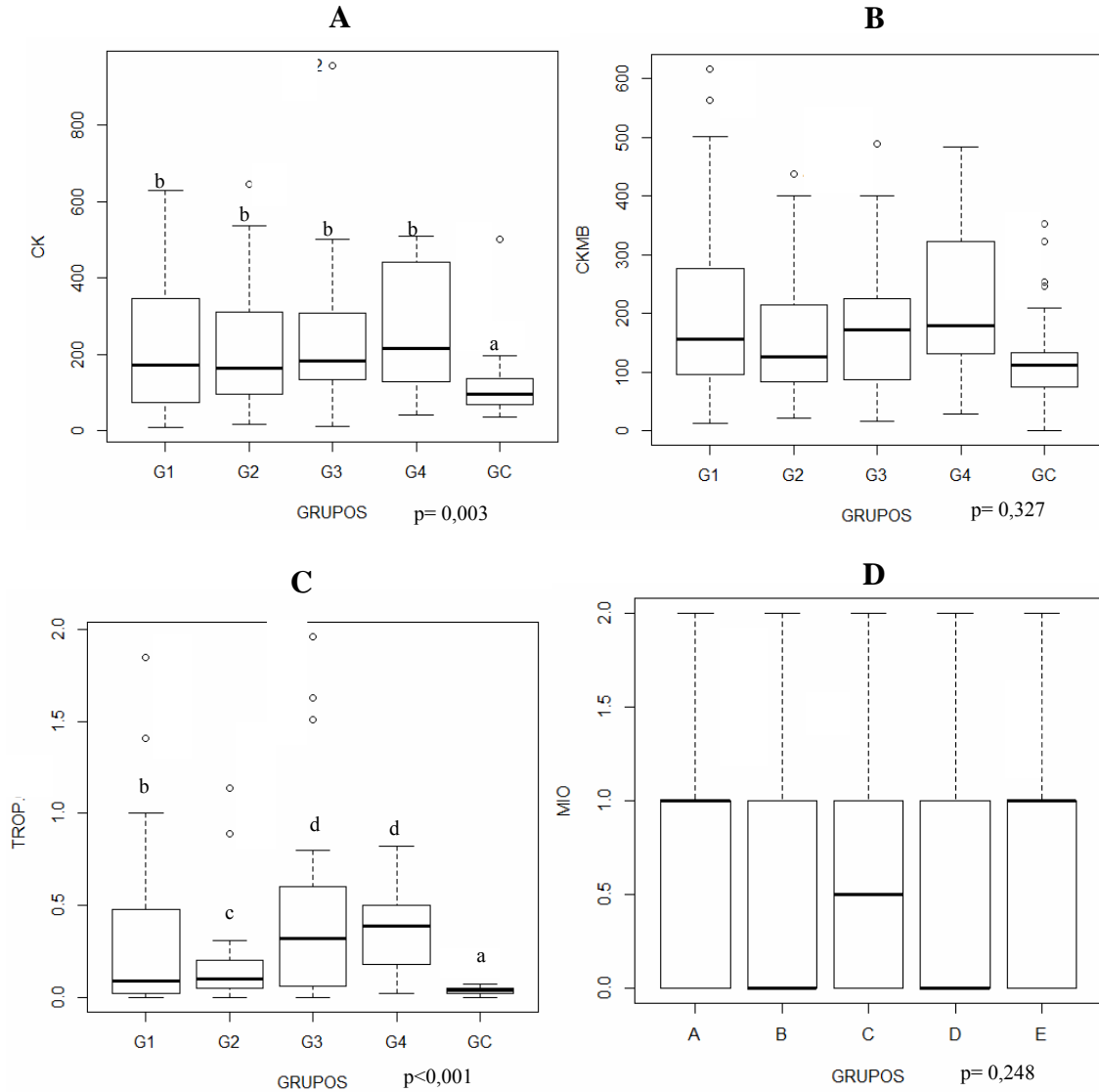


Figura 1: Gráfico Boxplot dos biomarcadores cardíacos de acordo com os diferentes grupos analisados. G1 – cães com VG entre 21,1 e 36% (anemia leve), G2 - cães com VG entre 16,1 e 21% (anemia moderada), G3 - cães com VG entre 10,1 e 16% (anemia grave), G4 - cães com VG igual ou abaixo de 10% (anemia muito grave) e GC - cães hígidos, sem alteração patológica e hematológica. **A:** Gráfico Boxplot da atividade sérica de CK, **B:** Gráfico Boxplot da atividade sérica de CKMB. **C:** Gráfico Boxplot da concentração sérica de troponina I e **D:** Gráfico Boxplot da concentração sérica de mioglobina. As letras referem-se à comparação dos postos médios pelo teste Student-Newman-Keuls. UEL, Londrina, PR, 2015.

DISCUSSÃO

A troponina I apresentou resultados positivos quanto à correlação da severidade da anemia na avaliação de lesão cardíaca, visto que houve aumento progressivo de seus valores à medida que os níveis de hemoglobina reduziram e cães saudáveis apresentaram-se dentro dos valores de referência para a espécie ($<0,07\text{ng/mL}$) (SLEEPER *et al.*, 2011), enquanto que em todos os grupos anêmicos as medianas mantiveram-se acima desse nível. Assim concorda-se que atualmente a troponina é mais eficaz no diagnóstico bioquímico de lesão miocárdica em mamíferos, por ter maior especificidade cardíaca que a CKMB (FREDERICK *et al.*, 2001).

A troponina I cardíaca também evidenciou diferenças significativas entre os grupos experimentais demonstrando a importância da avaliação deste biomarcador cardíaco na avaliação da severidade da anemia, mesmo que os grupos anemia grave e muito grave não tenham se diferenciado estatisticamente.

O presente estudo também encontrou aumentos progressivos da frequência cardíaca à medida que a intensidade da anemia aumentava, mesmo que estes tenham se mantidos dentro dos valores de referência para cães (TILLEY, 1992). O coração é fundamental nos mecanismos compensatórios para controle da hipóxia anêmica, este fato justifica a importância da busca de sinais de hipóxia miocárdica. Embora ocorra o aumento na circulação coronariana nos animais anêmicos, também aumenta a demanda por oxigênio devido à sobrecarga de trabalho, gerando uma disfunção orgânica. Por ativação destes mecanismos compensatórios o aumento da frequência cardíaca é esperado, visto que na tentativa de manter o suprimento de oxigênio aos tecidos são desencadeados reflexos no sistema nervoso autônomo (FELMAN *et al.*, 2000). Entretanto, um estudo com hemodiluição em suínos não evidenciou o aumento da frequência cardíaca em relação a queda dos níveis de hemoglobina (LAUSCHER *et al.*, 2011), contrariamente ao estudo de hemodiluição em cães, que demonstrou diferenças estatísticas antes e após a redução do hematócrito (CHAMPION *et al.*, 2011).

A frequência respiratória apresentou-se maior nos grupos controle e anemia leve provavelmente por estes animais apresentarem-se clinicamente melhores, conseqüentemente maior agitação e troca de calor pelas vias respiratórias, mesmo assim não inviabilizando os resultados, pois o grupo de anemia muito grave teve aumento da frequência respiratória em relação aos pacientes com anemia moderada ou grave.

Não se verificou diferença significativa entre os grupos para os valores de pressão arterial ($p=0,3514$), demonstrando que os pacientes anêmicos hidratados ou com desidratação leve não apresentam alterações deste parâmetro, mesmo com ativação de mecanismos

compensatórios como a frequência cardíaca que elevou-se nos quadros mais graves de redução do volume globular promover o aumento da frequência cardíaca. Resultados semelhantes foram descritos por Champion *et al.* (2011) que ao promover hemodiluição normovolêmica observou que a pressão arterial mantinha-se estável. A fosfatase alcalina (FA) foi outro parâmetro analisado que apresentou aumento de seus valores acima dos níveis de normalidade em todos os grupos de animais anêmicos, hipotetizamos que a hipóxia anêmica e a produção de corticoides endógenos decorrente de doenças graves foram fatores que contribuíram para mediana elevada em ambos os grupos anêmicos. Estudo semelhante também encontrou o mesmo padrão e aumento de FA, entretanto com redução no seu grupo mais grave, justificando que embora a FA (hepática), envolva principalmente o sistema biliar, a lesão de hepatócitos decorrente de hipóxia pode levar à tumefação das células, obstrução dos canálculos biliares e indução de uma maior produção e liberação de FA (FERNANDEZ *et al.*, 2007), mesmo não havendo alterações em ALT.

Observou-se que a proteína total apresentou valores diretamente proporcionais ao volume globular, assim quanto mais grave a anemia menor os valores medianos de proteína total encontrados, processo este decorrente da redução das concentrações séricas de albumina, entretanto, somente o grupo de pacientes com anemia muito grave (G4) apresentou mediana abaixo do valor de referência 6,0 a 8,0 g/dL (KANEKO *et al.*, 1998).

Ao mesmo tempo com grande importância clínica observa-se que os valores medianos de albumina mantiveram-se abaixo dos limites de referência de 2,1 a 4,3 g/dL em ambos os grupos anêmicos quando comparados ao grupo controle (KANEKO *et al.*, 1998). Assim infere-se a relação do quadro anêmico sobre a concentração sérica de albumina, mesmo que os grupos 3 e 4 com anemia grave e muito grave não tenham demonstrado diferença significativa. Entre as causas da hipoalbuminemia em cães como fator nutricional, redução da produção em hepatopatias, aumento das perdas em glomerulopatias ou enteropatias com perda proteica e em decorrência a distúrbios inflamatórios e infecciosos, acredita-se que em cães anêmicos distúrbios inflamatórios e deficiência na produção das proteínas plasmáticas sejam os processos mais prováveis na promoção de hipoalbuminemia (NELSON e COUTO, 2010).

Os resultados do eletrocardiograma evidenciaram a ocorrência geral de 34,05% de alterações sugestivas de hipóxia miocárdica, resultado este inferior a outro estudo que evidenciou 57,1% de alterações (CURTI *et al.*, 2010). Contrariamente estudos com anemia aguda ou por hemodiluição não evidenciaram alterações eletrocardiográficas correlacionadas à hipóxia (MEHTA *et al.*, 1983; STANOJEVIC e STANKOV 1998; CHAMPION *et al.*, 2011). Entre as alterações eletrocardiográficas a mais representativa foi aumento de amplitude de onda T

acima de 25% de R, sendo verificado em 47 animais. Segundo Tilley (1992) esta alteração pode ocorrer nos casos de hipóxia do miocárdio, distúrbios de condução interventricular, dilatação ventricular, bradicardias, distúrbios eletrolíticos, distúrbios metabólicos, intoxicação medicamentosa, doença neurológica e por elevação na concentração de catecolaminas, podendo um ou mais eventos estar presentes nos animais que apresentaram onda T maior que o normal.

A avaliação de mioglobina demonstrou ser ineficaz para o delineamento proposto apresentando em todas as aferições valores inferiores a 2 mg/dL, resultado este possível, pois a mioglobina não tem uma proteína específica plasmática apresentando rápido metabolismo hepático e renal. Estudos demonstram diferentes tempos de retorno aos níveis basais de normalidade após instalação da lesão, sendo de aproximadamente 6 horas (CAVALCANTI *et al.*, 1998). Independentemente do estudo torna-se claro que a mioglobina apesar de validade para avaliações agudas, tendo extrema importância em quadros como infarto agudo do miocárdio, traz pouca ou nenhuma informação adicional em casos crônicos ou períodos superiores a 48 horas da instalação da lesão.

Em contrapartida outros marcadores cardíacos mantem os níveis séricos aumentados por um maior período após o início da lesão como a enzima creatina fosfoquinase (CK) e sua isoforma creatina fosfoquinase MB (CK-MB) que apresentam um metabolismo mais lento. (CAVALCANTI *et al.*, 1998).

Portanto observou-se que a CK apresentou diferença significativa entre os grupos anêmicos e o grupo controle demonstrando o aumento da atividade enzimática nos quadros anêmicos, entretanto não possibilitou distinção entre os graus de severidade da anemia. Sua interpretação clínica também mostrou-se limitada uma vez que os seus valores medianos em ambos os grupos se mantiveram dentro dos níveis de referência para a espécie de 50 a 250 (U/L) (THRALL, 2006). Mesmo assim, salienta-se que o grupo de anemia muito grave apresentou valores muito superiores ao grupo controle com um aumento de 123,96% dos níveis de CK. Em humanos foi comprovada influência do sexo sobre os valores de referência da CK total e sua fração CKMB (KILPATRICK *et al.*, 1993; LEE *et al.*, 1994). No presente estudo não foi observado esta interferência ($p=0,2137$), estando de acordo com os resultados de Aktas *et al.*, (1993) que não observaram influência do sexo sobre a atividade sérica de CK, que é maior em cães jovens que em adultos e eleva-se após o exercício físico. Outros fatores que podem interferir nas atividades enzimáticas de CK e sua isoforma CKMB são presença de hemoglobina (sangue hemolisado) podendo aumentar em 21% os resultados, lipemia que aumenta em 15% a atividade de CK e presença de diversas substâncias químicas presentes em

alguns medicamentos como metotrexato (THOMAS *et al.*, 2005). Por estes e outros fatores estudos humanos demonstram baixa sensibilidade principalmente em avaliações de infarto agudo do miocárdio, sendo a sensibilidade de CK 33,3% e a especificidade de 84,8% e da fração CKMB de 22,2%, e a especificidade de 95,7% (CAVALCANTI *et al.*, 1998). Assim não descartamos essas influências nos resultados apresentados como um ponto de restrição às interpretações, visto que no grupo controle as medianas da isoforma MB foram superiores a mediana de CK, quadro este também relatado em humanos e associado a detecção de uma forma híbrida mitocondrial da enzima MB que é imunologicamente distintas das demais frações, podendo ser liberada pelo trato gastrointestinal, próstata, bexiga, rins e útero, em casos de comprometimento maciço desses órgãos (Macro-CKMB tipo 2) (CAMAROZANO e HENRIQUES, 1996). As Macro-CKMB são tidas como causas de falsos positivos de CKMB e merece maior atenção quando os níveis de CK permanecem normais, podendo ocorrer também em quadros neoplásicos ou por adição de anticorpos IgG ou IgA às isoformas CKBB e CKMM (Macro-CKMB tipo 1) (CAMAROZANO e HENRIQUES, 1996).

Portanto, a presença de um desses fatores ou mesmo associação destes, podem ser a justificativa para o resultado encontrado, visto que não houve controle alimentar dos animais do grupo controle de forma que algumas amostras apresentavam-se lipêmicas. Nos grupos anêmicos foram incluídos pacientes com hemoparasitose e anemia hemolítica imunomediada apresentando diferentes graus de hemólise e por fim não foi realizada diferenciação das isoformas por cromatografia impedindo afirmar a presença das Macro-CKMB.

A avaliação da CKMB no presente estudo não evidenciou diferenças estatísticas nos diferentes grupos, ao contrário de Franco *et al.* (2009) que sugeriram que uma diminuição no fornecimento de oxigênio do miocárdio é suficiente para induzir um aumento da atividade de CKMB sérica em cães.

Na avaliação de lactato observou-se que este em uma aferição única, não apresentou diferenças estatísticas entre os grupos quanto à severidade da anemia. Sua interpretação clínica também possui limitada utilidade visto que todos os grupos apresentaram medianas superiores aos valores de referência para cães. Assim, sabendo que a hiperlactatemia tem origem multifatorial, acredita-se que os elevados níveis de lactato podem ser em decorrência da atividade física, convulsão hipoxemia, anemia, choque, doença renal, sepse, entre outras (BOYSEN, 2006; ALLEN e HOLM, 2008). Desta forma, possivelmente a anemia não tenha sido o único fator desencadeante da hiperlactatemia nos cães avaliados neste estudo.

CONCLUSÃO

Os resultados apresentados neste estudo permitem inferir que a hipóxia anêmica pode promover lesões às células miocárdicas em pacientes com vários graus de anemia. Desta forma, na conduta do paciente anêmico, os biomarcadores, principalmente a Troponina I juntamente com a avaliação individual, poderá mostrar a necessidade de terapias de reposição como oxigênio-terapia e transfusão sanguínea mais precocemente do que vem sido instituído.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, J.E.I.; BODOR, G.S.; DÁVILA-ROMAN, V.G.; DELMEZ, J.A.; APPLE, F.S.; LADENSON, J.H.; JAFFE, A.S. Cardiac troponin I. A marker with high specificity for cardiac injury. **Circulation** v.88, p. 101– 106, 1993.
- AKTAS, D. M.; AUGUSTE,D.; LEFEBVRE, H.P.; TOUTAIN, P.L.; BRAUM, J.P. Creatine kinase in the dogs: a review. **Veterinary Research Communications**, v. 17, n.5, p.353-369, 1993.
- ALLEN, S. E.; HOLM, J. L. Lactate: physiology and clinical utility. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**. v. 18, n. 2, p. 123-132, 2008.
- BIRKMEYER, R.C.; DIACO, R.; HUTSON, D.K.; LAU, H.P.; MILLER, W.K.; NEELKANTAN, N.V.; PANKRATZ, T.J.; TSENG, S.Y.; VICKERY, D.K.; YANG, E.K.; Applications of novel chromium dioxide magnetic particles to immunoassay development. **Clin Chem**. v.33, n.9, Set/1987, p. 1543-1547.
- BOSWOOD, A.; DUKES-McEWAN, J.; LOUREIRO, J., JAMES, R.A. MARTINS, M.; STAFFORD-JOHNSON, M.; SMITH, P.; LITTLE, C.; ATTREE, S. The diagnostic accuracy of different natriuretic peptides in the investigation of canine disease. **Journal of Small Animal Practice**, v.49, n.1, p.26-32, 2008.
- BOYSEN, S. Lactate and critically ill patient. In: 12th International Veterinary Emergency and Critical Care Symposium, 2006, San Antonio. Proceedings IVECCS, 2006.
- CAMAROZANO, A.C.A.; HENRIQUES, L.M.G. Uma Macromolécula Capaz de Alterar o Resultado da CK-MB e Induzir ao Erro no Diagnóstico de Infarto Agudo do Miocárdio. **Arq Bras Cardiol**, v. 66, n.3, p.143-147, 1996.
- CARSON, J.L.; DUFF, A.; POSES, R.M.; BERLIN, J.A.; SPENCE, R.K.; TROUT, R.; NOVECK, H.; STROM, B.L. Effect of anaemia and cardiovascular disease on surgical mortality and morbidity. **Lancet**, v.348, n.19, p. 1055–1060, Out/1996.

CAVALCANTI, A.B.; HEINISCH, R.H.; ALBINO, E.C.; ZUNINO, J.N. Diagnóstico do Infarto Agudo do Miocárdio. Valor da Dosagem de Mioglobina Sérica Comparada com a Creatinofosfoquinase e sua Fração MB. **Arq Bras Cardiol**, v. 70, n.2, p. 75-80, 1998.

CHAMPION, T.; NETO, G.B.P.; CAMACHO, A.A.; Effects of Acute Normovolemic Anemia on Hemodynamic Parameters and Acid-Base Balance in Dogs. **Veterinary Medicine International**, v. 2011, n. 1, Fev/2011, p. 1-6.

CURTI, C. M. et al. Avaliação dos parâmetros eletrocardiográficos em cães com diferentes graus de anemia naturalmente adquirida. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 32, n. 4, p. 9-10, 2010.

DINIZ, P.P.V.P.; SCHWARTZ, R.C.; COLLICCHIO-ZUANAZE, R.C. Cardiac trauma confirmed by cardiac markers in dogs: two case reports. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.1, p.85-89, 2007.

DREXEL, H.; DWORZACK, E.; KIRCHMAIR, W.; MILZ, M.M.; PUSCHENDORF, B.; DIENSTL, F.; Myoglobinemia in the early phase of acute myocardial infarction. **Am Heart J** v. 105, n. 4, Abr/1983, p.642-651.

FELDMAN, B.F.; ZINKI, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's Veterinary Hematology**., 5 ed. Philadelphia: Lippincott Williams e Wilkins, 2000.

FERNÁNDEZ, E.; GARCIA, C.; DE LA ESPRIELLA, R.; DUEÑAS, C.R.; MANZUR, F. Biomarcadores cardíacos: presente y futuro. **Rev Colomb Cardiol**. v. 19, n.6, 2012, p. 300-311.

FERNANDEZ, N.; KIDNEY, B.A.; Alkaline, Phosphatase: beyond the liver. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 36, n.3, p. 223-233, 2007.

FERREIRA, F.S.; SILVEIRA, L.L.; COSTA, A.C.; VALE, D.F.; CARVALHO, C.B.; MACHADO, J.A.; OLIVEIRA, A.L.A. Estudo do comportamento da creatino quinase (ck) e creatino quinase-mb (ck-mb) sérica de cães submetidos à oxigenação por membrana extracorpórea (ecmo) durante um período de três horas. **Ciência Animal Brasileira**, v.11, n.3, 2010, p.705-712.

FISHBEIN, M.C.; MEERBAUN, S.; RIT, J.; LADO, U.; KANMATSUSE, K.; MERCIER, J.C.; CORDAY, E.; GANZ, W. Early phase myocardial infarct size quantification: Validation of Triphenil Tetrazolium Chloride tissue enzyme staining technique. **American Heart Journal**. v.101, n.5, p.593-600, 1981.

FRANCO, L.G. et al. Assessment of serum enzymatic markers of cardiomyocytes injury in female dogs submitted to ketamine S(+), atropin and xylazine association. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.24, n.1, p.36-42, 2009.

FREDERICK, S. et al. Cardiac troponins and creatine kinase content of striated muscle in common laboratory animals. **Clinica Chimica Acta**, v.304, n.1-2, p.65-74, 2001.

GILKESON, G.; STONE, M.J.; WATERMAN, M.; TING, R.; GOMEZ-SANCHEZ, C.E.; HULL, A.; WILLERSON, J.T.; Detection of myoglobin by radio immunossay in human sera:

its usefulness and limitations as an emergency room screening test for acute myocardial infarction. **Am Heart J.** v.95, n.1, Jan/1978, p. 70-77.

GODOY, M.F. et al. Troponina como marcador de injúria celular miocárdica. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.71, n.4, p.629-633, 1998.

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals.** 5 ed., San Diego: Academic Press, 1997, 932 p.

KILPATRICK, W.S.; WOSORNU, D.; MCGUINNESS, J.B.; GLEN, A.C.A.; Early diagnosis of acute myocardial infarction: CK-MB and myoglobin compared. **Ann Clin Biochem** v.30, n.5, Set/1993, p. 435-438.

KLEIN G, KAMPMANN M, BAUM H, RAUSCHER T, VUKOVIC T, HALLERMAYER K, REHNER, H.; MÜLLER-BARDORFF, M.; KATUS, H.A. Clinical performance of the new cardiac markers troponin T and CK-MB on the Elecsys 210. A multicentre evaluation. **Wien Klin Wochenschr Suppl**, v.3, n.1, p.40 –51. 1998.

LAUSCHER, P.; KERTSCHO, H.; RAAB, L.; HABLER, O.; MEIER, J.; Changes in heart rate variability across different degrees of acute dilutional anemia. **MINERVA ANESTESIOLOGICA.** v.77, n.10, Out/2011, p. 943-951.

LEE, H. S.; CROSS, S. J.; GARTHWAITE, P.; DICKIE, A.; ROSS, I.; WALTON, S.; JENNINGS, K.; Comparison of the value of novel rapid measurement of myoglobin, creatine kinase, and creatine kinase MB with the electrocardiogram for the diagnosis of acute myocardial infarction. **Br Heart J.** v. 71, n.4, Abr/1994, p.311-315.

LEE, T.H., GOLDMAN, L. Serum enzyme assays in the diagnosis of acute myocardial infarction. **Ann Intern Med.** v.105, n.2, Ago/1986, p. 221-233.

LOPEZ JR, ROJAS B, GONZALEZ MA, TERZIC A: Myoplasmic Ca²⁺ concentration during exertional rhabdomyolysis. **Lancet** v. 345, n.8947, Fev/1995, p. 424-425.

MARKS, A.D.: Myoglobinuria. **Am J Med Sci.** v. 261, n.6, Jun/1971, p. 351-353.

MCCOMB, J.M.; MCMASTER, E.A.; MACKENZIE, G.; ADGEY, A.A.J.; Myoglobin and creatine kinase in acute myocardial infarction. **Br Heart J.** v. 51, n. 2, Fev/1984, p. 189-94.

MEHTA, B.C.; PANJWANI, D.D.; JHALA, D.A. Eletrophysiologic abnormalities of heart in iron deficiency anemia: effect of iron therapy. **Acta Haematologica.** v.70, n.3, p. 189-193, 1983.

MUCHA, C.J.; CAMACHO, A.A. Determinação da pressão arterial. In: BELERENIAN, G.C.; MUCHA, C.J.; CAMACHO, A.A. **Afecções cardiovasculares em pequenos animais.** São Caetano do Sul, SP.: Interbook, 2003. p.68-71.

NELSON, R.W.; COUTO, C. G. **Medicina interna de pequenos animais.** 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010, 1468 p.

- NUNES, J.P.L.; MAGALHÃES, D.; DIAS, P.; FARIA, D.B. Troponin I elevation after pericardiocentesis for cardiac tamponade: a role for myocardial strain? **Int J Cardiol**, v.81, p. 277-278, 2001.
- O'BRIEN, P.; LANDT, Y.; LADENSON, J.H. Differential reactivity of cardiac and skeletal muscle from various species in a cardiac troponin I immunoassay. **Clin. Chem.**, v.43, p.2333-2338, 1997.
- OBZANSKY, D.M.; RABIN, D.M.; Simons, D.M.; TSENG, S.Y.; SEVERINO, D.M.; EGGELTE, H.; FISHER, M.; HARBRON, S.; STOUT, R.W.; DI PAOLO, M.J.; Sensitive, colorimetric enzyme amplification cascade for determination of alkaline phosphatase and application of the method to immunoassay of thyrotropin. **Clin Chem**, v. 37, n. 9, Set/1991, p. 1513-1518.
- OYAMA, M.A.; SISSON, D.D. Cardiac troponin-I concentration in dogs with cardiac disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.18, n.6, p. 831-839, 2004.
- PINO, V.O. et al. Determinación de los niveles séricos de enzimas cardíacas em perros adultos com enfermedad cardiovascular. **Revista de Investigaciones Veterinarias del Peru**, v.19, n.2, p.144-147, 2008.
- RISHNIW, M.; BARR, S.C.; SIMPSON, K.W.; WINAND, N.J.; WOOTTON, J.A.M. Cloning and sequencing of the canine and feline cardiac troponin I genes. **Am. J. Vet. Res.**, v.65, n.1, p.53-58, 2004.
- ROSA, N.G.; SILVA, G.; TEIXEIRA, A.; RODRIGUES, F.; ARAÚJO, J.A. Rbdomiólise, **Acta Méd Port**, Lisboa, v.18 n. 04, 2005, p. 271-282.
- SANTOS, A.L.F.; LARSSON, M.H.M.A.; PEREIRA, G.G.; SANTOS, M.M.; GUTIERREZ, V.C.R. Dosagem sérica de troponina I em cães com desnível do segmento ST utilizando quimioluminescência. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.63, n.6, p.1330-1336, 2011
- SCHOBBER, K.; CORNAND, C; KIRBACH, B.; AUPPERLE, H.; OECHTERING, G. Serum cardiac troponin I and cardiac troponin T concentrations in dogs with gastric dilatation-volvulus. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.221, n.3, p.381-388, Ago/2002.
- SCHOBBER, K.E.; KIRBACH, B.; OECHTERING, G. Noninvasive assessment of myocardial cell injury in dogs with suspected cardiac contusion. **J. Vet. Cardiol.**, v.1, p.17-25, 1999.
- SHINDE, S.B. et al. Relevant cardiac biochemical markers. **Bombay Hospital Journal**, v.46, n.4, 2004.
- SIEKMANN, L.; CERIOTTI, F.; FERARD, G.; KANNO, T.; SCHUMANN, G.; BONORA, R.; CLERC-RENAUD, P.; FERRERO, C.A.; IFCC Primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. Part 2. Reference procedure for the measurement of catalytic concentrations of creatine kinase [ATP: creatine N-phosphotransferase (CK), EC 2.7.3.2] **Clin Chem Lab Med.**, v. 40, n.6, 2002, p. 635-642.
- SLEEPER, M.M.; CLIFFORD, C.A.; LASTER, L.L. Cardiac troponin I in the normal dog and cat. **J. Vet. Intern. Med.**, v.15, n1., 2001, p. 501-503.

SPOTSWOOD, T.C.; KIRBERGER, R.M.; KIRB, L.M.P.K; REYERS, F.; VAN DER MERWE, L. A canine model of normovolaemic acute anaemia. **Onderstepoort J Vet Res**; v.72, n.2, Set/2005, p.135-143.

SPRATT, D.P.; MELLANBY, R.J; DRURY, N.; ARCHER, J. Cardiac troponin I: evaluation I of a biomarker for the diagnosis on heart disease in the dog. **J. Small Anim. Pract**, v.46, n.3, p.139-145, 2005.

STANOJEVIC, M.; STANKOV, S. Eletrocardiographic changes in patients with chronic anemia. **Srpski Arhiv za Celokupno, Lekarstvo**, v.126, n.11-12, p. 461-466, 1998.

THOMAS, W.P.; GABER, C.E.; JACOBS, G.J.; KAPLAN, P.M.; LOMBARD, C.W.; MOISE, N.S.; MOSES, B.L. Recommendations for standards in transthoracic two-dimensional echocardiography in the dog and cat. **Vet. Radiol.**, v.35, n.3, p. 173-178, 1994.

THRALL, M.A.; BAKER, D.C.; CAMPEBELL, T.W.; DENICOLA, D.; FETTMAN, M.J.; LASSEN, E.D.; REBAR, A.; WEISER, G.; **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. 1 ed., São Paulo: Roca, 2006. 582p.

TILLEY, L.P. **Essentials of canine and feline electrocardiography**. 3. ed. Philadelphia: Lea e Febiger, 1992. 470p.

TVEDTEN, H.; WEISS, D.; The complete blood count and bone marrow examination: general comments and selective techniques. In: WILLARD, M. D. e TVEDTEN, H. **Small animal clinical diagnosis by laboratory methods**. 4. ed. St. Louis, Missouri: Saunders, 2000. Cap. 2, p.14-37.

VANHOLDER, R.; SEVER, M.S.; EREK, E.; LAMEIRE, N.; Rhabdomyolysis. **J Am Soc Nephrol**, v.11, n.8, Ago/2000, p. 1553-1561.

WEISS, D.J.; WARDROP, K.J.; **Schalm's Veterinary Hematology**. 6 ed., Ames: Wiley-Blackwell, 2010. 1232p.

YONEZAWA, L.A.; SILVEIRA, V.F.; MACHADO, L. P.; KOHAYAGAWA, A. Marcadores cardíacos na medicina veterinária. **Cienc. Rural**, Santa Maria. vol. 40, no.1, Fev 2010, p.222-230.

5. ARTIGO B

Artigo formatado conforme as normas para publicação da Revista Semina: Ciências Agrárias

AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE PROTEÍNA C REATIVA (PCR) EM CÃES COM ANEMIA NATURALMENTE ADQUIRIDA

EVALUATION OF PROTEIN C REACTIVE LEVELS (PCR) IN DOGS WITH ANEMIA NATURALLY ACQUIRED

W.G. Suhett¹, V.P. Cecheti², D.Venturini³, P.M. Pereira⁴

- 1- Mestrando do programa de Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina – UEL
weslemsuhett@gmail.com
- 2- Aluno de graduação em Medicina Veterinária da Universidade Estadual de Londrina – UEL
- 3- Professora do Departamento de Patologia, Análises Clínicas e Toxicológicas da Universidade Estadual de Londrina – UEL
- 4- Professora do Departamento de Clínicas Veterinária da Universidade Estadual de Londrina – UEL

RESUMO

A anemia inflamatória é comumente relatada em animais domésticos, mas em geral é discreta e sem sinais clínicos aparentes. Assim reconhecer o envolvimento inflamatório nos quadros anêmicos torna-se um desafio, onde as proteínas de fase aguda, em específico a proteína C reativa (PCR) revela-se importante no estabelecimento do diagnóstico, prognóstico e acompanhamento do tratamento. O objetivo desse trabalho foi avaliar os níveis séricos da PCR em cães com diferentes graus de anemia, procurando estabelecer uma possível correlação entre as elevações séricas desta proteína com a severidade da anemia. Foram avaliados 108 cães anêmicos acometidos por diferentes enfermidades, divididos em quatro grupos de acordo com o grau de intensidade da anemia: G1 – volume globular (VG) entre 21,1 e 36% (n=41), G2 - VG entre 16,1 e 21% (n=24), G3 - VG entre 10,1 e 16% (n=23), G4 - VG igual ou abaixo a 10% (n=20) e 30 cães saudáveis (n=30), sendo estes utilizados como grupo controle. Os animais foram submetidos à avaliação física, hematológica, bioquímica e dosagem por imunoturbidimetria da proteína C reativa. Na avaliação da bioquímica observou que somente a proteína total foi significativa apresentando uma correlação negativa com a PCR. No leucograma foi observado leucocitose no G3 e neutrofilia em G1, G2 e G3. Apesar dos níveis de ferro não terem se mostrado significativos nas análises estatísticas, dos cães anêmicos 9,25% (10/108) apresentaram diminuição do ferro sérico, podendo este fato estar envolvido com deficiência ferropriva ou doença inflamatória. Todos os grupos de cães anêmicos evidenciaram aumento na concentração da PCR, sendo que este aumento apresentou uma correlação positiva com a intensidade da anemia, indicando a gravidade do processo patológico. Conclui-se que a proteína C reativa possui correlação com a severidade da anemia.

Palavras-chave: Inflamação. Hipóxia. Proteínas de Fase Aguda. Cães. Ferro.

ABSTRACT

The inflammatory anemia is commonly reported in domestic animals, but is generally mild with no apparent symptoms. So recognize the inflammatory involvement in the anemic frames becomes a challenge where the acute phase proteins, in particular C-reactive protein proved to be important in establishing the diagnosis, prognosis and monitoring of treatment of disease. Therefore the aim of this study was to evaluate serum levels of CRP in dogs with varying degrees of anemia, trying to establish a possible correlation between serum elevations of this protein with the severity of anemia. We evaluated 108 anemic dogs affected by different diseases, divided into four groups according to the degree of intensity of anemia: G1 - VG between 21.1 and 36%, G2 - VG between 16.1 and 21%, G3 - VG between 10.1 to 16%, G4 - VG equal to or below 10% and 30 healthy dogs, the latter being used as control group. The animals were submitted to physical evaluation, hematological, biochemical and determination by immunoturbidimetric C-reactive protein. In the evaluation of serum biochemistry noted that only the total protein was presenting a significant negative correlation with PCR. The leukocyte count was observed in G3 and leukocytosis neutrophilia in G1, G2 and G3. Despite the iron levels have not been shown to be significant in the stats analyzes, anemic dogs 9.25% (10/108) had decreases in serum iron, which can actually be involved with iron deficiency or inflammatory disease. All groups of anemic dogs showed increased concentrations of CRP, and this increase was significantly correlated with the degree of anemia, indicating the severity of the disease process. We can conclude that C-reactive protein has correlation with the severity of anemia.

Key words: Inflammation. Hypoxia. Acute Phase Proteins. Dogs. Iron.

INTRODUÇÃO

A anemia é uma alteração clínica de ocorrência comum em medicina veterinária acometendo muitos cães. É definida como uma diminuição da contagem de eritrócitos, do volume globular e da concentração de hemoglobina. Diversos graus de severidade são observados em diferentes situações clínicas, sendo que a hipóxia tecidual e a diminuição da viscosidade sanguínea exercem efeitos importantes no organismo e na hemodinâmica cardiovascular (THRALL et al., 2006; CHAMPION et al., 2011).

Diante de diversas situações patológicas ou quaisquer eventos que levem à injúria tecidual, dentre eles a anemia, o organismo animal desenvolve rapidamente um conjunto complexo de alterações denominado resposta de fase aguda positiva (RFA), com o propósito de restaurar a homeostase e remover a etiologia causadora do desequilíbrio. Esta resposta não é específica, porém apresenta-se rapidamente, antecedendo o estímulo do sistema imune adaptativo (CERÓN et al., 2005; DABROWSKI et al., 2007).

O surgimento da RFA, decorre principalmente de lesões teciduais, causas infecciosas, imunológicas ou neoplásicas (CERÓN et al.; 2005; MURATA et al., 2004) e promove diversos efeitos locais e sistêmicos no organismo, tais como mudanças nas funções metabólicas, endócrinas, neurológicas e variações nas concentrações de proteínas plasmáticas conhecidas como proteínas de fase aguda (PFA) (ECKERSALL, 2000; DABROWSKI et al., 2007). As PFA são agentes de extrema importância para a

resposta de fase aguda, são sintetizadas prioritariamente pelo fígado, porém ocorre também a produção extra-hepática por células epiteliais, endoteliais e tecido conectivo (JAIN et al., 2011).

Após a lesão tecidual, uma resposta imediata é formada no local, ativando linfócitos T helper 2 (TH2), macrófagos, fibroblastos e células endoteliais, que liberam citocinas como interleucina 1 (IL-1), interleucina 6 (IL-6), interleucina 8 (IL-8) e fator de necrose tumoral (TNF- α), as quais irão estimular os hepatócitos a produzirem e liberarem as PFA, ocasionado sua elevação na corrente sanguínea. O estímulo para a produção das PFA ocorre entre seis a oito horas após a agressão, e sua concentração máxima é atingida entre 24 a 48 horas após o estímulo (RODRIGUES, 2009).

Estas proteínas então seguem para o sítio da lesão tecidual, promovendo atuação local, enquanto outras atuam de forma sistêmica no organismo, ambas contribuindo para reestabelecer a homeostase e promover a limitação do crescimento microbiano. Algumas ainda são responsáveis pelo *feedback* negativo sobre a resposta inflamatória, inibindo citocinas pró-inflamatórias advindas da resposta de fase aguda. As PFA, portanto, em conjunto com as demais alterações, tem o papel de mediar o estado de inflamação do organismo (RODRIGUES, 2009).

Dentre essas proteínas de fase aguda, a que mais se destaca entre os estudos desta natureza é a proteína C reativa (PCR). Atualmente sabe-se que auxilia na inflamação se ligando e ativando linfócitos, que por sua vez, desencadeiam a ativação da via clássica do complemento. Desde a sua descoberta vem sendo utilizada pela medicina como um marcador extremamente sensível da inflamação e em humanos também é conhecida por sua utilização para diferenciar determinadas infecções virais de bacterianas (TIZARD, 2002).

Em medicina veterinária, a monitorização da resposta inflamatória ainda é um desafio clínico, pois os sinais da inflamação nem sempre se manifestam. Sendo assim, a utilização de testes hematológicos e da bioquímica sérica, e nesse caso encaixa-se a mensuração de PFA como a proteína C reativa, pode ser necessária para diagnosticar doenças inflamatórias assintomáticas (NOGUEIRA, 2002). Neste contexto, muitos avanços foram alcançados em relação à PCR e demais PFA nas últimas décadas, envolvendo o monitoramento de animais de companhia. A quantificação da concentração dessas proteínas no sangue revelou-se importante no estabelecimento do diagnóstico, prognóstico e acompanhamento do tratamento de doenças (MURATA et al, 2004). Isto se deve ao fato de que estas proteínas podem ser consideradas marcadores precoces de qualquer processo patológico, uma vez que suas elevações ocorrem antes das demais manifestações clínico-laboratoriais inflamatórias e infecciosas, como por exemplo febre, leucocitose (neutrofilia e monocitose) e aumento da taxa de volume de hemossedimentação (VHS) (JAIN, 1993; CERÓN et al., 2005). Inclusive, destaca-se a importância da utilização destes testes para processos inflamatórios que não possam ser detectados pela contagem leucocitária, revelando grande funcionalidade do conhecimento das PFA na prática clínica. No caso especificamente da PCR em cães, sabe-se que o canino não responde tão bem com aumento de fibrinogênio em quadros inflamatórios agudos assim como os equinos e bovinos, deste modo à proteína C reativa pode revelar-se realmente eficaz para a avaliação inflamatória nesta espécie,

uma vez que o VHS sofre influência direta dos níveis aumentados de fibrinogênio (VECINA et al., 2006).

Diversos pesquisadores têm realizado trabalhos envolvendo a mensuração da PCR em diferentes situações patológicas, procurando a elucidação da utilização desta proteína na prática clínica de animais de companhia. Nakamura et al. (2008), demonstraram que a determinação da PCR pode contribuir para a detecção precoce de doenças em cães, visto que, como já mencionado anteriormente, o aumento na concentração dessa proteína ocorreu antes mesmo do início da manifestação clínica.

Segundo Rikihisa et al., (1994), Shimada et al., (2002) e Munhoz et al., (2009) pode-se suspeitar de infecção por erliquia em cães quando os níveis plasmáticos da PCR estiverem elevados, também revelando a funcionalidade diagnóstica desta proteína para essa doença. Além disso, especificamente no caso da erliquiose, a mensuração da PCR pode inclusive ser usada para demonstrar o pico de parasitemia (SHIMADA et al., 2002; MUNHOZ et al., 2009).

Trabalhos ainda relatam a associação da PCR com a piometra em cadelas, afirmando que a mensuração desta proteína pode ser recomendada como exame coadjuvante para o diagnóstico da enfermidade (FRANSSON et al., 2007; CARVALHO et al., 2008)

Com relação a quadros anêmicos, o conhecimento da relação com as PFA ainda são poucas, entretanto estudos com anemia hemolítica imunomediada (AHIM) demonstram correlação com a PCR, sendo que animais acometidos por esta afecção apresentam maior concentração sérica desta PFA quando comparado a cães saudáveis. Mesmo não apresentando diferenças estatísticas com relação a prognóstico em outros quadros hematológicos como leucemia e linfoma, nos casos de AHIM a PCR é um importante fator prognóstico, visto que a taxa de mortalidade foi superior nos animais que não tiveram redução das concentrações séricas desta proteína após o tratamento (TECLE et al., 2005; GRIEBSCH et al., 2009).

Diante do exposto, podemos observar que o uso da PCR pode ser considerado uma ferramenta laboratorial interessante e promissora para o clínico veterinário. Apesar disso, a mensuração desta proteína ainda não é realizada na rotina clínica, pois embora a fisiopatologia dos processos envolvendo esta proteína já seja conhecida, ainda há lacunas a serem preenchidas a respeito da padronização de técnicas e propriamente à respeito da prospecção de novas utilizações. O objetivo desse trabalho foi avaliar os níveis séricos da proteína C reativa em cães com diferentes graus de anemia naturalmente adquiridas, procurando estabelecer uma possível correlação entre as elevações séricas desta proteína com a severidade da anemia, bem como a correlação com os parâmetros físicos, clínicos, hematológicos e bioquímicos de cães.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado na Universidade Estadual de Londrina, sendo o grupo experimental formado de 108 cães anêmicos, acometidos por diferentes enfermidades, atendidos no Hospital Veterinário e 30 cães saudáveis, sendo estes utilizados como grupo controle.

Os cães foram divididos em cinco grupos (G) de acordo com a severidade da anemia: G1 – cães com VG entre 21,1 e 36% (anemia leve), G2 - cães com VG entre 16,1 e 21% (anemia moderada), G3 - cães com VG entre 10,1 e 16% (anemia grave), G4 - cães com VG igual ou abaixo de 10% (anemia muito grave) e Gc - grupo controle (TVEDTEN e WEISS, 2000; WEISS; WARDROP, 2010; LAUSCHER et al., 2011).

O estudo avaliou 138 animais apresentando a seguinte composição: G1 41 animais (29,7%), G2 24 animais (17,4%), G3 23 animais (16,6%), G4 20 animais (14,6%) e Gc 30 animais (21,7%).

Os grupos foram formados por cães sem restrição quanto à raça ou sexo, apresentando idade entre dois (2) e dez (10) anos, peso superior ou igual a cinco (5) quilogramas. Foram excluídos do estudo pacientes que no momento da admissão ou posteriormente apresentasse histórico ou sinais clínicos compatíveis com doença cardiovascular primária, doenças pulmonares e neoplásicas, bem como quadros hemorrágicos por trauma.

O paciente anêmico foi submetido à avaliação física e colheita de sangue por venopunção jugular para realização de exames laboratoriais. Pacientes que estavam desidratados ao exame físico só seriam submetidos à colheita de material biológico após hidratação por um período máximo de 48 horas. Pacientes com desidratação superior a 7%, mesmo após fluidoterapia por período de 48 horas da admissão, foram excluídos do estudo.

No exame físico foram realizadas aferições da frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), temperatura retal (T°C), pulso, coloração de mucosas, tempo de preenchimento capilar (TPC) e grau de desidratação.

Na avaliação laboratorial, foi realizado hemograma, dosagem dos níveis séricos da proteína C reativa (PCR) e bioquímica sérica convencional. As contagens de eritrócitos, volume globular médio, volume globular, hemoglobina, leucócitos e plaquetas foram realizadas por método automático (BC2800vet Auto Hematology Analyzer[®], Mindray, China). A avaliação diferencial de leucócitos e a contagem de reticulócitos foram realizadas por microscopia óptica.

Os exames bioquímicos séricos incluídos no experimento foram a proteína total, albumina, creatinina, uréia, alanina amino transferase (ALT), fosfatase alcalina (FA), ferro, ferritina, capacidade total de ligação do ferro (CTLF), glicose e lactato, ambos por metodologia padronizada com kits comerciais utilizados no equipamento automático Dimension[®] clinical chemistry system (Siemens[®]/Alemanha).

A PCR foi dosada por meio de kit comercial (Siemens[®]/Alemanha) no equipamento automático Dimension[®] clinical chemistry system. A dosagem da proteína C reativa baseia-se numa técnica de

imunoensaio turbidimétrico melhorado de partículas sintéticas revestidas com anticorpos contra a proteína C reativa que agregam-se na presença de PCR na amostra.

Os resultados foram submetidos à análise estatística pelo programa estatístico R. Foram realizadas comparações entre os dados obtidos dos cães entre os diferentes graus de anemia. As variáveis contínuas foram apresentadas como medianas e porcentagens para as variáveis categóricas. Os dados obtidos quando não paramétricos foram submetidos aos testes de Kruskal Wallis e Correlação de Spearman e os resultados paramétricos foram submetidos ao teste Exato de Fisher. Para todas análises estatísticas serão adotadas o nível de significância de 5%.

Este projeto foi aprovado pela comissão de ética no uso de animais (CEUA/UEL) pelo processo nº 8393201305.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para composição do estudo foram avaliados 71 fêmeas e 67 machos alocados nos diferentes grupos, sendo que a variável sexo não demonstrou correlação com os níveis de proteína C Reativa ($p=0,832$) corroborando com os estudos de Kuribayashi et al. (2003) que avaliando 144 cães da raça beagle também não observaram efeito de sexo sobre os níveis da PCR.

Yamamoto et al. (1994) e Kuribayashi et al. (2003), avaliaram animais domiciliados e em ambientes controlados, não evidenciando efeito da idade sobre os níveis da PCR, semelhantemente foi observado no presente estudo onde a idade média dos animais foi $7,14\pm 2,28$ anos e não apresentou correlação estatística com os níveis da PCR ($p= 0,915$). Entretanto, Hayashi et al. (2001) observaram que após indução de inflamação por inoculação de óleo de terebentina, as concentrações máximas da PCR se revelaram significativamente diferentes entre os grupos de cães com 3 e 18 meses de idade.

Entre os participantes as raças mais frequentes foram pit bull ($n=10$), poodle ($n=8$), labrador ($n=7$), boxer ($n=5$), golden ($n=5$) e rottweiler ($n=5$). Também participaram 67 cães sem raça definida e mais 31 cães de outras raças. Estes apresentaram como peso médio $17,58\pm 7,75$ Kg, não apresentando diferenças estatísticas quando comparados aos níveis de PCR ($p= 0,196$). Portanto, infere-se que as variáveis peso, idade e sexo não interferem nos níveis da PCR.

No exame físico observou-se que 90 animais se apresentavam hidratados e 48 apresentavam desidratação leve (7%), divididos da seguinte forma 12, 15, 11 e 10 animais respectivamente nos grupos G1, G2, G3 e G4. A avaliação do pulso e tempo de preenchimento capilar não foram estatisticamente significativos apresentando respectivamente $p= 0,204$ e $p= 0,882$. Entretanto, a coloração das mucosas apresentou diferenças estatísticas significativas, onde os animais com mucosas pálidas apresentavam mediana das concentrações da PCR superiores ($2,9 \text{ mg dL}^{-1}$) aos que estavam com mucosas rosadas ($2,1 \text{ mg dL}^{-1}$) ($p= <0,001$).

A temperatura retal ($p= 0,221$) neste estudo não apresentou correlação com os níveis da PCR (tabela 1), diferentemente do encontrado por Munhoz et al. (2009) que verificaram a correlação de picos febris com o aumento da PCR, justificado por provável pico de parasitemia.

A frequência cardíaca apresentou correlação positiva ($r= 0,25$; $p= 0,003$) com os níveis de proteína C reativa, ou seja, à medida que se aumenta as concentrações da PCR ocorre simultaneamente aumento da frequência cardíaca, provavelmente em decorrência aos fatores compensatórios na anemia (LEUNG et al. 2000).

Por outro lado, a frequência respiratória apresentou correlação negativa ($r= -0,26$; $p= 0,002$) com a PCR. Este fato pode ser justificado pelo estado clínico dos animais com menores concentrações séricas de PCR, pois se tratavam dos cães controle e com anemia leve, apresentando-se no exame físico, agitados e com taquipnéia. Interferência esta não visualizada nos outros grupos em decorrência as situações limitantes promovidas pela doença de base.

Tabela 1. Correlação de Spearman da proteína C reativa (PCR) com os parâmetros físicos frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), Tempo de preenchimento capilar (TPC) e temperatura retal (TR) de cães com anemia naturalmente adquirida. UEL, Londrina, PR, 2015.

Variável	FC	FR	TPC	TR
PCR	0,253 (0,003)	-0,117 (0,002)	0,0130 (0,882)	-0,1073 (0,220)

$r(p)$. Animais n:138.

O leucograma é o exame mais rotineiramente utilizado para avaliação de processo inflamatório sistêmico, assim observamos uma correlação positiva entre as concentrações da PCR e os valores absolutos de leucócitos totais e segmentados. Os níveis de linfócitos não apresentaram correlação com a proteína C reativa (Tabela 2).

Tabela 2. Análise de variância pelo teste de Kruskal-Wallis em medianas, postos médios e interquartis dos valores hematológicos dos cães anêmicos (G1, G2, G3 e G4) e grupo controle (Gc), sendo G1 – Grupo de anemia leve, G2 – Grupo anemia moderada, G3 – Grupo anemia grave e G4 – Grupo anemia muito grave e correlação de Spearman entre os valores hematológicos e concentração sérica de PCR. UEL, Londrina, PR, 2015.

Variável	Gc (n=30)	G1 (n=41)	G2 (n=24)	G3 (n=23)	G4 (n=20)	P valor	Correlação PCR
HE* (x106/μL)	6,61 ^a (6,17–7,48) 115,3	4,44 ^b (3,9–4,87) 80,72	3,17 ^c (2,85–3,35) 53,76	2,3 ^{cd} (2–2,43) 31,75	1,55 ^d (1,13–1,69) 12,10	<0,001	-0,4504 (<0,001)
HGB* (g/dL)	13,15 ^a (12,1–14,6) 121,92	8,6 ^b (7,6–9,5) 87,23	5,4 ^c (5,1–5,8) 53,17	4,2 ^{cd} (3,6–4,6) 32,89	2,3 ^d (1,9–2,7) 11,97	<0,001	-0,4475 (<0,001)
VG* (%)	41,7 ^a (39,2–45,7) 122,5	27 ^b (24,2–30) 86,95	18,7 ^c (18–19,6) 55,09	14,3 ^d (13,4–15) 32	8,55 ^d (7,3–9,5) 10,5	<0,001	-0,4599 (<0,001)
VCM (fL)	63,2 (60–64,9)	61,2 (60–65,2)	62,2 (53,7–65,3)	61,4 (58,8–64)	59,8 (55,4–64)	0,328	-0,1052 (0,230)
HCM (pg)	19,85 ^a (19–20,2) 87,77	19,45 ^{ab} (18,6–20) 78,51	18,5 ^c (15,6–19,2) 53,63	18,3 ^{bc} (17,3–20) 64,11	17,3 ^c (15–19,5) 45,8	<0,001	-0,1292 (0,139)
CHCM (%)	31,05 ^a (30–33) 87,27	31,2 ^{ab} (30,2–32,6) 84,89	29,1 ^c (28–29,8) 50,54	29,3 ^c (26,6–33) 56,76	27,15 ^c (26,2–29,8) 44,32	<0,001	-0,1150 (0,1893)
Leucócitos (μL)	7750 ^a (6117–9672) 38,71	14625 ^b (10242–21850) 75,46	13400 ^{bc} (9350–18161) 60,64	17900 ^{bc} (9107–31637) 78,02	9180 ^{ac} (5950–27150) 53,55	<0,001	0,2478 (0,005)
Seg Abs (μL)	5714 ^a (4827–7167) 34,57	12860 ^b (7881–20450) 74,32	11612 ^b (8600–15740) 65,17	16319 ^b (7134–27051) 81,02	9675 ^b (6174–28783) 69,25	<0,001	0,3143 (<0,001)
Linf Abs (μL)	1221 ^a (861–1882) 69,25	1580 ^{ab} (1078–2140) 79,43	606 ^c (378–1222) 40,34	1097 ^{abd} (659–2261) 67,86	687 ^{acd} (407–1812) 52,96	<0,001	-0,0715 (0,429)
Plaquetas (x103/μL)	380 ^a (312–410) 78,33	336 ^a (90–520) 80,58	264 ^a (15–476) 63,46	305 ^a (1–423) 63,47	113 ^b (7,2–367) 40,3	0,002	-0,1472 (0,093)

Correlação de Spearman ao nível de significância de 5% r(p). As letras referem-se a comparação dos postos médios pelo teste Student-Newman-Keuls. Valores de referência segundo Trall et al. (2006): *Hemácias (HE) 5,5 – 8,5 $\times 10^3/\mu$ L, *Hemoglobina (HGB) 12-18 g/dL, *Volume Globular (VG) 36-55%, VCM 60-77 fL, VHCM 19-23 pg, CHCM 32-36 %, Leucócitos 6,0 – 17 $\times 10^3/\mu$ L, Segmentados 3000 – 11500 μ L, Linfócitos 1000 – 1350 μ L e Plaquetas >200000 μ L.

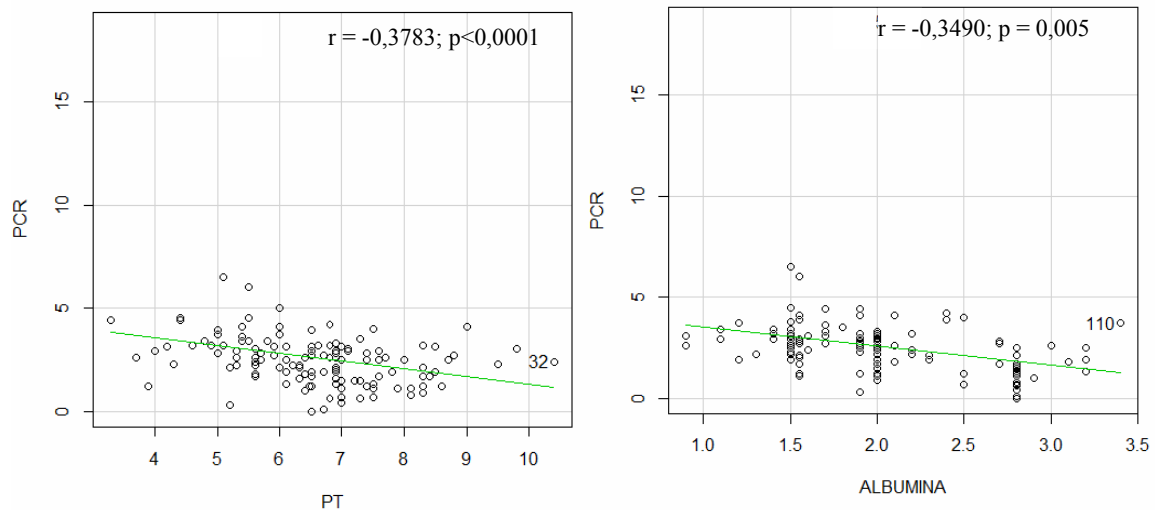
Apesar das correlações, somente o grupo 3 apresentou leucocitose, os demais grupos permaneceram com valores medianos dentro da normalidade, entretanto observou-se uma neutrofilia nos grupos 1, 2 e 3 e uma linfopenia nos grupos 2 e 4 quando comparado as medianas obtidas com os valores de referência para cães (THRALL et al., 2006).

Assim não se pretende fazer conclusões quanto à causa e efeito, mas somente associação de eventos, visto que tanto a anemia quanto o processo inflamatório mesmo que dependentes possuem mecanismos multifatoriais geralmente em decorrência à doença primária.

Os parâmetros bioquímicos avaliados, fosfatase alcalina, alanina amino transferase, creatinina, uréia, glicose, lactato e ferro demonstraram não ter correlação com os níveis da proteína C reativa (p>0,05),

em contrapartida a proteína total plasmática ($r = -0,38$; $p < 0,001$) e albumina ($r = -0,35$; $p = 0,005$) apresentaram correlação negativa com os índices de proteína C reativa (Figura 1).

Figura 1. Gráfico de dispersão dos valores de proteína plasmática total e albumina em relação aos níveis da proteína C reativa de cães anêmicos atendidos no Hospital Veterinário da Universidade estadual de Londrina no período de Agosto de 2013 a Outubro de 2014. UEL, Londrina, PR, 2015.



Segundo Thrall et al. (2006) a patogênese da anemia inflamatória não está totalmente elucidada, acreditam-se que a causa seja multifatorial. Na avaliação laboratorial da anemia inflamatória foi observado uma diminuição da concentração sérica de ferro, capacidade total de ligação do ferro normal ou diminuída e ferritina normal ou aumentada. Apesar dos níveis de ferro não terem se mostrado significativos nas análises estatísticas, observa-se que 9,25% dos animais (10/108) apresentavam níveis de ferro abaixo da normalidade para cães ($\geq 50 \mu\text{g dL}^{-1}$), sendo que todos estavam anêmicos e apresentavam valores de proteína C reativa superiores aos encontrados no grupo controle (KANEKO et al., 1997; COELHO et al., 2006).

Dos dez animais com deficiência de ferro, 30% ($n=3$) pertencia ao grupo de anemia leve, 10% ($n=1$) possuía anemia moderada, 40% apresentava anemia grave ($n=4$) e 20% apresentava anemia muito grave ($n=2$). Os animais apresentavam anemia normocítica, tornando difícil a diferenciação entre anemia decorrente de doença inflamatória de anemia ferropriva (MARTÍNEZ-SUBIELA; CERÓN, 2005), uma vez que a ferritina, o teste ouro na classificação da anemia neste estudo mostrou baixa sensibilidade com testes imunológicos utilizando kits humanos, desta forma destaca-se a importância da dosagem da PCR como teste auxiliar na diferenciação entre as anemias.

O metabolismo do ferro em quadros de anemia inflamatória tem sido muito discutido. Embora ocorra a diminuição dos níveis séricos de ferro, a reserva desse mineral encontra-se aumentada, de forma que se suspeita que a anemia ocorra por falta de disponibilidade do ferro para os precursores eritróides como prováveis causas, a fagocitose e armazenamento do ferro na forma de ferritina pelos

macrófagos, diminuição da absorção de ferro no trato gastrointestinal, destruição de hemácias por macrófagos ativados e menor secreção de eritropoetina (THRALL et al., 2006).

Observou no presente estudo também uma redução da capacidade de ligação do ferro nos pacientes anêmicos sendo que 21 animais apresentaram a capacidade total de ligação do ferro (CTLF) abaixo dos níveis de referência para cães (282-386 $\mu\text{g dL}^{-1}$) (KANEKO et al., 1997; COELHO et al., 2006). Dos 21 cães, nove apresentavam anemia leve, dois anemia moderada, quatro anemia grave e seis anemia muito grave, não sendo observado alterações nos níveis da CTLF do grupo controle. Acredita-se que o envolvimento do ferro nos processos inflamatórios seja um mecanismo de defesa do paciente por disponibilizar menor quantidade de ferro necessário ao crescimento bacteriano (THRALL et al., 2006).

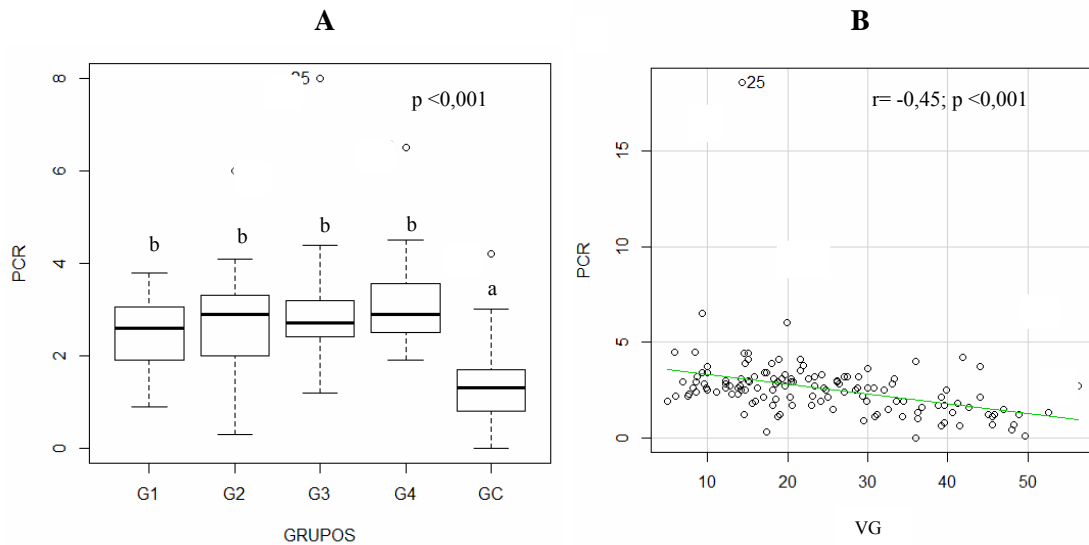
Na avaliação sérica da PCR observou que o grupo controle apresentou mediana de 1,3 mg dL^{-1} , inferior aos grupos anêmicos, onde os animais com anemia leve (G1), anemia moderada (G2), anemia grave (G3) e anemia muito grave (G4) apresentaram respectivamente 2,6 mg dL^{-1} , 2,8 mg dL^{-1} , 2,7 mg dL^{-1} e 2,85 mg dL^{-1} .

Eckersall et al. (1991) relataram em seus estudos que valores séricos da PCR em cães, baixos ou indetectáveis, são indicativos de ausência de processos patológicos, resultados estes que corroboram com este estudo, onde o grupo controle apresentava baixos níveis de proteína C reativa com mediana de 1,3 mg dL^{-1} . Apesar de bem difundida na medicina humana, a técnica de imunoturbidimetria é pouco difundida na medicina veterinária existindo apenas alguns trabalhos que a utilizam, dificultando parâmetros de comparação e determinação de valores de referência. Segundo Yamamoto et al., (1994) apesar de ser um método simples, rápido e sensível, é pouco difundido por requerer instrumentos especializados, elevando o custo dos exames. Nakamura et al. (2008), utilizando a mesma técnica empregada no presente estudo, avaliaram 928 cães com diferentes afecções e determinaram que os valores iguais ou inferiores a 0,95 mg dL^{-1} estavam na faixa de normalidade. Possíveis explicações para a diferença dos valores justificam-se, pois os kits utilizados por Nakamura et al., (2008) eram específicos para cães, enquanto no presente estudo foi utilizado kits humanos, outro fator é o número amostral superior ao utilizado neste estudo. Segundo Yamamoto et al. (1992), a PCR humana apresenta composição diferente da canina, de forma que para a acurácia e aplicabilidade do teste se faria necessário o uso específico de anticorpos anti-PCR canino. Entretanto, os resultados apresentados no presente estudo, mostraram ser possível o uso do kit humano para a dosagem da PCR em cães, pois embora os resultados do grupo controle tenham sido acima do encontrado por Nakamura et al. (2008), houve uma grande diferença entre este grupo e o grupo dos pacientes anêmicos.

Assim, comparando os grupos experimentais foi observada uma diferença estatística significativa entre os animais anêmicos e o grupo controle (figura 2A), entretanto não foi evidenciada diferença quanto à severidade da anemia. Estudo avaliando o comportamento da concentração sérica da PCR frente à severidade da doença mixomatosa da válvula mitral também observou o mesmo comportamento de diferença entre animais doentes e saudáveis, mas sem correlação com a severidade da doença

(LJUNGVALL et al., 2010). Entretanto, quando se comparou a concentração sérica da PCR com o volume globular observou uma correlação negativa ($r = -0,45$; $p < 0,001$), demonstrado na figura 2B.

Figura 2. Gráfico Boxplot da distribuição da proteína C reativa em relação aos níveis de anemia naturalmente adquirida em cães atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina no período de Agosto de 2013 a Outubro de 2014. **G1** - (VG entre 21,1 e 36%), **G2** - (VG entre 16,1 e 21%), **G3** - (VG entre 10,1 e 16%), **G4** - (VG menor 10%) E **GC** (VG > 36%). UEL, Londrina, PR, 2015.



Os dados do estudo em tela demonstram que a PCR pode ser usada não somente como indicador de processo inflamatório, mas também ser interpretada como possível consequência da anemia, que pode provocar hipóxia tecidual e morte celular, concordando com os achados de Martínez-Subiela et al. (2005) e Matijatko et al. (2007) que afirmam, quanto mais grave o dano tecidual maior é a resposta das proteínas da fase aguda.

CONCLUSÕES

Mediante os resultados apresentados conclui-se que a proteína C reativa possui correlação com os valores do volume globular, mas não evidencia diferenças estatísticas quanto à severidade da anemia. Sem pretensões de informar sobre causa e efeito inferimos que através da PCR torna-se claro a associação de eventos inflamatórios com quadros anêmicos.

Também demonstrou-se a aplicabilidade da técnica de imunoturbidimetria com kits humanos para dosagem desta proteína de fase aguda de cães, apresentando um parâmetro laboratorial importante na avaliação da inflamação.

REFERÊNCIAS

- ABERNETHY, T.J.; Studies on the somatic C-polysaccharide of pneumococcus: II. The precipitation reaction in animals with experimentally induced pneumococcal infection. **J. exp. Med.**, v. 65, n. 1, Jan/1937, p. 75-89.
- ANDERSON, H.C.; MCCARTY, M.; The occurrence in the rabbit of an acute phase protein analogous to human C-reactive protein. **J. exp. Med.**, v. 93, n.1, Jan/1951, p. 25-36.
- CARVALHO, C.D.D.; RÊGO, E.W.; QUEQUE, M.; SOARES, P.C.; Avaliação da proteína C reativa, fibrinogênio e leucograma em cadelas com e sem piometra. **Medicina Veterinária**, v.2, n.2, 2008, p 1-8.
- CERON, J.J.; ECKERSALL, P.D.; MARTYNEZ-SUBIELA, S.; Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. **Vet. Clin. Pathol.**, v.34, n.2, jun/2005, p.85–99.
- CHAMPION, T.; NETO, G.B.P.; CAMACHO, A.A.; Effects of Acute Normovolemic Anemia on Hemodynamic Parameters and Acid-Base Balance in Dogs. **Veterinary Medicine International**, v. 2011, n. 1, Fev/2011, p. 1-6.
- COELHO, A. O; MUNDIM, A. V.; HORTÊNCIO, S. M.; GUIMARÃES, E. C., Influência dos fatores etários e sexuais nos valores de ferro sérico em cães doberman. **Veterinária Notícias**, v.12, n.2, 2006, p.101.
- DABROWSKI, R.; WLADYSLAW W. W.; KOSTRO, K. Changes in CRP, SAA and haptoglobin produced in response to ovariohysterectomy in healthy bitches and those with piometra. **Theriogenology**, v.67, 2007, p.321–327.
- ECKERSALL, P.D. Acute phase proteins as markers of infection and inflammation: monitoring animal health, animal welfare and food safety. **Irish Vet. J.**, v.53, p.307-311, 2000.
- ECKERSALL, P.D.; CONNER, J.G.; HARVIE, J. An immunoturbidimetric assay for canine C-reactive protein. **Veterinary Research Communication**, v.15, n.1, 1991, p.17-24.
- FRANSSON, B.A.; LAGERSTEDT, A.; BERGSTROM, A.; HAGMAN, R.; PARK, J.S.; CHEW, B.P.; EVANS, M.A.; RAGLE, C.A.; C-reactive protein, tumor necrosis factor α , and interleukin-6 in dogs with pyometra and SIRS. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 17, n. 4, 2007, p.373-381.
- HAYASHI, S.; JINBO, T.; IGUCHI, K.; SHIMIZU, M.; SHIMADA, T.; NOMURA, M.; ISHIDA, Y.; YAMAMOTO, S.; A comparison of the concentrations of C-reactive protein and α 1-acid glycoprotein in the serum of young and adult dogs with acute inflammation. **Veterinary Research Communications**, v.25, n. 2, 2001, p.117-120.
- HURCOMBE, S.D.; MUDGE, M.C.; HINCHCLIFF, K.W. Clinical and clinicopathologic variables in adult horses receiving blood transfusions: 31 cases (1999-2005). **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v. 231, n.2, p. 267-274, 2007.
- JAIN, N.C. **Essentials of veterinary haematology**. Pennsylvania: Lea e Febiger, 1993. 989p.
- JAIN, S.; GAUTAN, V.; NASEEM, S. Acute phase proteins: a diagnostic tool. **Journal of Pharmacy and Biomedical Sciences**, v. 3, p. 118-127, 2011.

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 5 ed., San Diego: Academic Press, 1997, 932 p.

KURIBAYASHI, T.; SHIMADA, T.; MATSUMOTO, M.; KAWATO, K.; HONJYO, T.; FUKUYAMA, M.; YAMAMOTO, Y.; YAMAMOTO, S.; Determination of Serum C-Reactive Protein (CRP) in Healthy Beagle Dogs of Various Ages and Pregnant Beagle Dogs. **Experimental Animals**, v. 52, n.5, 2003, p. 387-390.

LAUSCHER, P.; KERTSCHO, H.; RAAB, L.; HABLER, O.; MEIER, J.; Changes in heart rate variability across different degrees of acute dilutional anemia. **MINERVA ANESTESIOLOGICA**. v.77, n.10, Out/2011, p. 943-951.

LEUNG, J.M.; WEISKOPF, R.B.; FEINER, J.; HOPF, H.W.; KELLEY, S.; VIELE, M.; LIEBERMAN, J.; WATSON, J.; NOORANI, M.; PASTOR, D.; YEAP, H.; HO, R.; TOY, P. Elettrocardiographic ST-segment changes during acute, severe Isovolemic Hemodilution in humans. **Anesthesiology**, v.93, n.4, Out/2000, p. 1004 – 1010.

MARTÍNEZ-SUBIELA, S.; CERÓN, J.J.; Effects of hemolysis, lipemia, hyperbilirrubinemia, and anticoagulants in canine C-reactive protein, serum amyloid A, and ceruloplasmin assays. **Can Vet J**, v.46, n.8, jul/2005, p.625–629.

MATIJATKO, V.; MRLJAK, V.; KIS, I.; KUCER, N.; FORSEK, J.; ZIVICNJAK, T.; ROMIC, Z.; SIMEC, Z.; CERON, J.J. Evidence of an acute phase response in dogs naturally infected with *Babesia canis*. **Vet. Parasitol.**, v.144, n.34, 2007, p.242-250.

MUNHOZ, T.D.; FARIA, J.L.M.; HERNANDES, G.V.; JOÃO, C.F.; PEREIRA, W.A.B.; ANDRÉ, M.R.; MACHADO, R.Z.; TINUCCI-COSTA, M.; Mensuração da proteína C-reativa na infecção experimental por *Ehrlichia canis* (amostra jaboticabal) e após o tratamento com cloridrato de doxiciclina em cães. **Vet. Not.**, Uberlândia, v.15. n.2, jul./dez. 2009

MURATA, H.; SHIMADA, N.; UOSHIOKA, M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. **The Vet. J.**, v.168, n.1 2004, p.28-40.

NAKAMURA, M.; TAKAHASHI, M.; OHNO, K.; KOSHINO, A.; NAKASHIMA, K.; SETOGUCHI, A.; FUJINO, Y.; TSUJIMOTO, H.; C-Reactive Protein Concentration in Dogs with Various Diseases. **J. Vet. Med. Sci.**, v.70, n.2, set/2008, p.127-131.

NOGUEIRA, F. S.; SILVA, C. L. S. P.; ARAUJO, S. A.; BORGES, J. H. R.; Alterações no proteinograma de animais portadores de leishmaniose visceral canina. **Ciências Agrárias e da Saúde-FEA**, v. 2, n. 2, 2002, p. 25-27.

PAGE, R. L. Hematologia. In: BIRCHARD, S. J.; SHERDING, R. G. **Manual Saunders clínica de pequenos animais**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2003. Seção 3, cap. 20, p. 172-176.

RIKIHISA, Y.; YAMAMOTO, S.; KWAK, I.; IQBAL, Z.; KOCIBA, G.; MOTT, J.; CHICHANASIRIWITJAYA, W.; C-Reactive protein and alpha 1-acid glycoprotein levels in dogs infected with *Ehrlichia canis*. **J. Clin. Microbiol.**, v.32, n.4, Abr/1994, p. 912-917.

RODRIGUES, V.; TONIOLLO, G. H.; LOPES, P. R.; CARDILLI, D. J.; OLIVEIRA, J. A. . Teores séricos de cortisol de fêmeas caninas (*Canis familiaris*- Linnaeus, 1758) submetidas à cesariana. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, p. 1186-1190, 2009.

SHIMADA, T.; ISHIDA, Y.; SHIMIZU, M.; NOMURA, M.; KAWATO, K.; IGUCHI, K.; JINBO, T. Monitoring c-reactive protein in beagle dogs experimentally inoculated with *Ehrlichia canis*. **Vet. Res. Commun.**, v.26, n.3, p.171-177, 2002.

THRALL, M.A.; BAKER, D.C.; CAMPEBELL, T.W.; DENICOLA, D.; FETTMAN, M.J.; LASSEN, E.D.; REBAR, A.; WEISER, G.; **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. 1 ed., São Paulo: Roca, 2006. 582p.

TIZARD, I. R.; *Imunologia Veterinária: uma introdução*. 6 ed. São Paulo: Roca, 2002. 532 p.

TVEDTEN, H.; WEISS, D.; Classification and laboratory evaluation of anemia. In FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's veterinary hematology**. 5 ed. Philadelphia, 2000. p. 143-150.

VECINA, J. F.; PATRÍCIO, R. F.; CIARLINI, P. C. Importância do fibrinogênio plasmático na identificação de processos inflamatórios de cães. **Ciências Veterinárias dos Trópicos**, v.9, n. 1, 2006, p. 31-35

TVEDTEN, H.; WEISS, D.; The complete blood count and bone marrow examination: general comments and selective techniques. In: WILLARD, M. D. e TVEDTEN, H. **Small animal clinical diagnosis by laboratory methods**. 4. ed. St. Louis, Missouri: Saunders, 2000. Cap. 2, p.14-37.

YAMAMOTO, S.; SHIDA, T.; HONDA, M.; ASHIDA, Y.; RIKIHISA, Y.; ODAKURA, M.; HAYASHI, S.; NOMURA, M.; ISAYAMA, Y.; Serum C-reactive protein and immune responses in dogs inoculated with *Bordetella bronchiseptica* (phase I cells). **Veterinary Research Communications**, v.18, n.5, 1994, p. 347-357.

YAMAMOTO, S.; TAGATA, K.; NAGAHATA, H.; ISHIKAWA, Y.; MORIMATSU, M.; NAIKI, M. Isolation of canine C-reactive protein and characterization of its properties. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.30, n.4, jan/1992, p.329-339.

6 CONCLUSÃO

Os resultados apresentados neste estudo permitem concluir que:

- A hipóxia anêmica pode promover lesões às células miocárdicas em pacientes com vários graus de anemia.
- A conduta clínica do paciente anêmico deve ser revista, levando em consideração as concentrações dos biomarcadores cardíacos, principalmente a Troponina I juntamente com a avaliação individual, que poderá mostrar a necessidade de terapias de reposição como oxigênio-terapia e transfusão sanguínea mais precocemente do que vem sido instituído.
- A proteína C reativa possui correlação positiva com a severidade da anemia.
- Sem pretensões de informar sobre causa e efeito inferimos que através da PCR torna-se claro a associação de eventos inflamatórios com quadros anêmicos.
- A aplicabilidade da técnica de imunoturbidimetria com kits humanos para dosagem da PCR de cães, apresentou-se um parâmetro laboratorial importante na avaliação da inflamação e anemia em cães.
- Deve ser dada maior atenção ao ferro mediante a compreensão de seu mecanismo fisiológico, não negligenciando a deficiência ferropriva em cães, mesmo que esta seja incomum.

REFERÊNCIAS

ABERNETHY, T.J. Studies on the somatic C-polysaccharide of pneumococcus: II. The precipitation reaction in animals with experimentally induced pneumococcal infection. **J. exp. Med.**, v. 65, n. 1, p. 75-89, Jan/1937.

ADAMS, J.E.I.; BODOR, G.S.; DÁVILA-ROMAN, V.G.; DELMEZ, J.A.; APPLE, F.S.; LADENSON, J.H.; JAFFE, A.S. Cardiac troponin I. A marker with high specificity for cardiac injury. **Circulation** v.88, n.1, p. 101-106, 1993.

AESSOPOS, A.; DEFTEREOS, S.; FARMAKIS, D.; COROVESIS, C.; TASSIOPOULOS, S.; TSIRONI, M.; GEORGONIKOU, D.; MOYSSAKIS, J. Cardiovascular adaptation to chronic anemia in the elderly: an echocardiographic study. **Clinical e Investigative Medicine**, Ottawa, v.27, n.5, p.265-273, 2004.

AIRD, B. Clinical and hematologic manifestations of anemia. In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's veterinary hematology**. 5 ed. Philadelphia: Lippincott Williams e Wilkins, 2000. p. 140-142.

AKTAS, D. M.; AUGUSTE, D.; LEFEBVRE, H.P.; TOUTAIN, P.L.; BRAUM, J.P. Creatine kinase in the dogs: a review. **Veterinary Research Communications**, v. 17, n.5, p.353-369, 1993.

ALLEN, S. E.; HOLM, J. L. Lactate: physiology and clinical utility. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**. v. 18, n. 2, p. 123-132, 2008.

ANDERSON, H.C.; MCCARTY, M.; The occurrence in the rabbit of an acute phase protein analogous to human C-reactive protein. **J. exp. Med.**, v. 93, n.1, p. 25-36, Jan/1951.

ARONSON, P.I.; WARD JPT: **The cardiovascular system**. Oxford: Blackwell Sciences, 1999.

BAGGER, H. Distribution of maximum coronary blood flow in the LV wall of anesthetized dogs. **Acta Physiologica Scandinavica**, Stockholm, v.104, n.1, p.48-60, 1978.

BAHL, V.K.; MALHOTRA, O.P.; KUMAR, D.; AGARWAL, R.; GOSWAMI, K.C.; BAJAJ, R.; SHRIVASTAVA, S. Noninvasive assessment of systolic and diastolic left ventricular function in patients with chronic severe anemia: a combined M-mode, two-dimensional, and Doppler echocardiographic study. **Am. Heart J.**, Durhan, v.124, n.6, p. 1516-1523, Dez/1992.

BAILEY, D.; AUDE, Y.W.; GORDON, P.; BURTT, D. ST-segment elevation myocardial infarction, severe anemia and on obstructive coronary disease: case report and brief comment. **Connecticut Medicine**, New Haven, v.67, n.1, p.3-5, 2003.

BARROSO R.M.V., GALLEGO J.G., TALHATE J., DENICOLLI, L.; IDERIHA, N.M.; RABELO, R.; BERTOLINI, M.M.; SARMENTO, P. A utilização do lactato como marcador biológico prognóstico. **UNESC em Revista**; v.9, n.1, p.157 – 172, 2006.

BARTLETT R.H. Oxygen kinetics: integrating hemodynamics, respiratory, and metabolic physiology. In: BARTLETT RH. **Critical care physiology**. 1 ed. Boston: Little, Brown and Company, 1996. p.1-23

BELLETTINI, S.T.; ALBERTON, L.R.; SILVA, R.P.B.; STEL, R.F.; LOURENÇO, W.S.; PACHALY, J.R. Avaliação dos níveis séricos de lactato em cães submetidos a anestesia dissociativa. **Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR**, v. 11, n.2, p. 87-95, 2008.

BERNE RM, LEVY MN. **The microcirculation, in cardiovascular physiology**. 8. ed. St Loius: Mosby, Inc, 2001. 155-174.

BIRKMEYER, R.C.; DIACO, R.; HUTSON, D.K.; LAU, H.P.; MILLER, W.K.; NEELKANTAN, N.V.; PANKRATZ, T.J.; TSENG, S.Y.; VICKERY, D.K.; YANG, E.K.; Applications of novel chromium dioxide magnetic particles to immunoassay development. **Clin Chem**. v.33, n.9, p. 1543-1547, Set/1987.

BOSWOOD, A.; DUKES-McEWAN, J.; LOUREIRO, J., JAMES, R.A. MARTINS, M.; STAFFORD-JOHNSON, M.; SMITH, P.; LITTLE, C.; ATTREE, S. The diagnostic accuracy of different natriuretic peptides in the investigation of canine disease. **Journal of Small Animal Practice**, v.49, n.1, p.26-32, 2008.

BURGENER, I.A.; KOVACEVIC, A.; MAULDIN, G.N.; LOMBARD, C.W. Cardiac troponins as indicators of acute myocardial damage in dogs. **J. Vet. Intern. Med.** v.20, n.2, p.277-283. Abr/2006.

BUSH, B.M. Hematologia. **Interpretação de Resultados Laboratoriais para Clínicos de Pequenos Animais**. 1. ed. São Paulo: Roca, 2004. 376p.

CAIN, S.M. Oxygen delivery and uptake in dogs during anemic and hypoxic hypoxia. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v.42, n.2, p.228-234, 1977.

CAMACHO, A.A. Aspectos clínicos e fisiopatológicos da insuficiência cardíaca congestiva (ICC). In: BELERENIAN, G.C., MUCHA, C.J.; CAMACHO, A.A. **Afecções cardiovasculares em pequenos animais**. São Caetano do Sul, SP: Interbook, 2003, p. 72-77.

CAMACHO, A.A.; PAULINO, JR, D.; PASCON, J.P.E.; TEIXEIRA, A.A. Comparison between conventional and computerized eletrocardiography in cats. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.62, n.3, p.765-769, 2010.

CAMAROZANO, A.C.A.; HENRIQUES, L.M.G. Uma Macromolécula Capaz de Alterar o Resultado da CK-MB e Induzir ao Erro no Diagnóstico de Infarto Agudo do Miocárdio. **Arq Bras Cardiol**, v. 66, n.3, p.143-147, 1996.

CARRETÓN, E., MORCHÓN, R.; GONZÁLEZ-MIGUEL, J.; JUSTE, M.C.; SIMÓN, F.; MONTOYA-ALONSO, J.A. Utility of cardiac biomarkers during adulticide treatment of heartworm disease (*Dirofilaria immitis*) in dogs. **Vet. Parasitol.** v.197, n.1-2, Out/2013.

CARSON, J.L.; DUFF, A.; POSES, R.M.; BERLIN, J.A.; SPENCE, R.K.; TROUT, R.; NOVECK, H.; STROM, B.L. Effect of anaemia and cardiovascular disease on surgical mortality and morbidity. **Lancet**, v.348, n.19, p. 1055–1060, Out/1996.

CARVALHO, C.D.D.; RÊGO, E.W.; QUEQUE, M.; SOARES, P.C.; Avaliação da proteína C reativa, fibrinogênio e leucograma em cadelas com e sem piometra. **Medicina Veterinária**, v.2, n.2, p. 1-8, 2008.

CAVALCANTI, A.B.; HEINISCH, R.H.; ALBINO, E.C.; ZUNINO, J.N. Diagnóstico do Infarto Agudo do Miocárdio. Valor da Dosagem de Mioglobina Sérica Comparada com a Creatinofosfoquinase e sua Fração MB. **Arq Bras Cardiol**, v. 70, n.2, p. 75-80, 1998.

CERON, J.J.; ECKERSALL, P.D.; MARTYNEZ-SUBIELA, S.; Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. **Vet. Clin. Pathol.**, v.34, n.2, p.85–99, jun/2005.

CHAMPION, T.; NETO, G.B.P.; CAMACHO, A.A.; Effects of Acute Normovolemic Anemia on Hemodynamic Parameters and Acid-Base Balance in Dogs. **Veterinary Medicine International**, v. 2011, n. 1, p. 1-6, Fev/2011.

CHAMPION, T.; NETO, G.B.P.; CAMACHO, A.A.; Electrocardiographic evaluation and serum cardiac troponin I levels in anemic dogs with blood parasitosis, **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina v. 34, n. 6, p. 2915-2924, Nov/2013.

COELHO, A. O; MUNDIM, A. V.; HORTÊNCIO, S. M.; GUIMARÃES, E. C., Influência dos fatores etários e sexuais nos valores de ferro sérico em cães doberman. **Veterinária Notícias**, v.12, n.2, p.101, 2006.

COLLINSON, P.O. Measurement of cardiac troponins. **Annals of Clinical Biochemistry**, v.38, n.5, p.423-449, 2001.

CUNNINGHAM, J.G. Visão geral da função cardiovascular. In: **Tratado de fisiologia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p.115-117.

CURTI, C. M. et al. Avaliação dos parâmetros eletrocardiográficos em cães com diferentes graus de anemia naturalmente adquirida. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 32, n. 4, p. 9-10, 2010.

DABROWSKI, R.; WLADYSŁAW W. W.; KOSTRO, K. Changes in CRP, SAA and haptoglobin produced in response to ovariohysterectomy in healthy bitches and those with piometra. **Theriogenology**, v.67, p.321–327, 2007.

DANESH, J.; WHINCUP, P.; WALKER, M.; LENNON, L.; THOMSON, A.; APPLEBY, P.; GALLIMORE, J.R.; PEPYS, M.B. Low grade inflammation and coronary heart disease: prospective study and updated meta-analyses. **BMJ**, v.321, p.199 –204, 2000.

DIAS, S.R.C. **Estudo dos níveis de L-lactato em plasma de coelho (*Oryctolagus cuniculus*): Determinação de valores de referência e seu valor prognóstico**. 2010. 80f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2010.

DIBARTOLA, S.P. **Anormalidades de fluidos, eletrólitos e equilíbrio acidobásico na clínica de pequenos animais**. 3. ed., São Paulo:Roca, 2007. 664p.

DINIZ, P.P.V.P.; MORAIS, H.S.A.; BREITSCHWERDT, E.B.; SCHWARTZ, D.S. Serum Cardiac Troponin I Concentration in Dogs with Ehrlichiosis. **J Vet Intern Med**, v.22, n.1, p.1136-1143, 2008.

DINIZ, P.P.V.P.; SCHWARTZ, R.C.; COLLICCHIO-ZUANAZE, R.C. Cardiac trauma confirmed by cardiac markers in dogs: two case reports. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.1, p.85-89, 2007.

DREXEL, H.; DWORZACK, E.; KIRCHMAIR, W.; MILZ, M.M.; PUSCHENDORF, B.; DIENSTL, F.; Myoglobinemia in the early phase of acute myocardial infarction. **Am Heart J** v. 105, n. 4, p.642-651, Abr/1983.

DUNN, J. K. **Tratado de Medicina de Pequenos Animais**. São Paulo: Roca, 2001. p.105-115.

DVIR, E.; LOBETTI, R.G.; JACOBSON, L.S.; PEARSON, J.; BECKER, P.J. Electrocardiographic changes and cardiac pathology in canine babesiosis. **Journal of Veterinary Cardiology**, Philadelphia, v.6, n.1, p.15-23, 2004.

ECKERSALL, P.D. Acute phase proteins as markers of infection and inflammation: monitoring animal health, animal welfare and food safety. **Irish Vet. J.**, v.53, p.307-311, 2000.

ECKERSALL, P.D.; CONNER, J.G.; HARVIE, J. An immunoturbidimetric assay for canine C-reactive protein. **Veterinary Research Communication**, v.15, n.1, 1991, p.17-24.

ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. **Tratado de medicina interna veterinária: doença do cão e do gato**. 5 ed., vol. 1, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014, 1038 p.

FELDMAN, B.F.; ZINKI, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's Veterinary Hematology**, 5 ed. Philadelphia: Lippincott Williams e Wilkins, 2000.

FERNÁNDEZ, E.; GARCIA, C.; DE LA ESPRIELLA, R.; DUEÑAS, C.R.; MANZUR, F. Biomarcadores cardíacos: presente y futuro. **Rev Colomb Cardiol**. v. 19, n.6, p.300-311, 2012.

FERNANDEZ, N.; KIDNEY, B.A.; Alkaline, Phosphatase: beyond the liver. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 36, n.3, p. 223-233, 2007.

FERREIRA, F.S.; SILVEIRA, L.L.; COSTA, A.C.; VALE, D.F.; CARVALHO, C.B.; MACHADO, J.A.; OLIVEIRA, A.L.A. Estudo do comportamento da creatino quinase (CK) e creatino quinase-MB (CKMB) sérica de cães submetidos à oxigenação por membrana extracorpórea (ECMO) durante um período de três horas. **Ciência Animal Brasileira**, v.11, n.3, p.705-712, 2010.

FISHBEIN, M.C.; MEERBAUN, S.; RIT, J.; LADO, U.; KANMATSUSE, K.; MERCIER, J.C.; CORDAY, E.; GANZ, W. Early phase myocardial infarct size quantification: Validation of Triphenil Tetrazolium Chloride tissue enzyme staining technique. **American Heart Journal**. v.101, n.5, p.593-600, 1981.

FITZMAURICE, T.F.; BROWN, C.; RIFAI, N.; WU, A.H.B.; YEO, K.T.J. False increase of cardiac troponin I with heterophilic antibodies. **Clin. Chem.**v.44, n.11, p.2212-2214, 1998.

FONFARA, S., LOUREIRO, J.F., SWIFT, S.; JAMES, R.A.; MARTINEZ-PEREIRA, Y.; LOPEZ-ALVAREZ, J.; SUMMERFIELD, N.; DUKES-MCEWAN, J. English springer spaniels with significant bradyarrhythmias--presentation, troponin I and follow-up after pacemaker implantation, **J Small Anim. Pract.** v.51, n.3, p.155-161, JAN/2010.

FRANCO, L.G.; FIORAVANTI, M.C.S.; DAMASCENO, A.D.; BORGES, A.C.; SOARES, L.K.; RABELO, R.E.; SILVA, L.A.F. Assessment of serum enzymatic markers of cardiomyocytes injury in female dogs submitted to ketamine S(+), atropin and xylazine association. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.24, n.1, p.36-42, Fev/2009.

FRANSSON, B.A.; LAGERSTEDT, A.; BERGSTROM, A.; HAGMAN, R.; PARK, J.S.; CHEW, B.P.; EVANS, M.A.; RAGLE, C.A. C-reactive protein, tumor necrosis factor α , and interleukin-6 in dogs with pyometra and SIRS. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 17, n. 4, p.373-381 2007.

FREDERICK, S.; MERTON, G.K.; LERENA, M.J.; HEINING, P.; CARTER, N.D.; HOLT, D.W. Cardiac troponins and creatine kinase content of striated muscle in common laboratory animals. **Clinica Chimica Acta**, v.304, n.1-2, p.65-74, 2001.

GEHA, A.S. Coronary and cardiovascular dynamics and oxygen availability during acute normovolemic anemia. **Surgery**. v.80, n.1, p. 47-53, 1976.

GILKESON, G.; STONE, M.J.; WATERMAN, M.; TING, R.; GOMEZ-SANCHEZ, C.E.; HULL, A.; WILLERSON, J.T.; Detection of myoglobin by radio immunossay in human sera: its usefulness and limitations as an emergency room screening test for acute myocardial infarction. **Am Heart J**. v.95, n.1,p. 70-77, Jan/1978.

GODOY, M.F. et al. Troponina como marcador de injúria celular miocárdica. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.71, n.4, p.629-633, 1998.

GOLDMANN, B.U., CHRISTENSON, R.H., HAMM, C.W., MEINERTZ, T. AND OHMAN, E.M. Implications of troponin testing in clinical medicine, **Curr Control Trials Cardiovasc Med**. v.2, n.2, p.75-84, 2001.

GUYTON A.C.; HALL JE. **Human physiology and mechanisms of disease**. 6. ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1997. 324-336.

HABLER, O.P.; MESSMER, K.F.W. The physiology of oxygen transport. **Transfusion Science**. v.18, n.3, p.425-435, 1997.

HAYASHI, S.; JINBO, T.; IGUCHI, K.; SHIMIZU, M.; SHIMADA,T.; NOMURA,M.; ISHIDA, Y.; YAMAMOTO, S.; A comparison of the concentrations of C-reactive protein and α 1-acid glycoprotein in the serum of young and adult dogs with acute inflammation. **Veterinary Research Communications**, v.25, n. 2, p.117-120, 2001.

HOLAHAN, M.L.; BROWN, A.J.; DROBATZ, K.J. The association of blood lactate concentration with outcome in dogs with idiopathic immune-mediated hemolytic anemia: 173

cases (2003-2006). **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v.20, n.4, p. 413–420, 2010.

HUGHES, D.; ROZANSKI, E.R.; SHOFER, F.S. Effect of sampling site, repeated sampling, pH and PCO₂ on plasma lactate concentration in healthy dogs. **Am J Vet Res** v.60, p.521-524, 1999.

HUGHES D. Lactate: What does it really tell us? In: **Proceedings 16th International Veterinary Emergency and Critical Care Symposium**. San Antonio. IVECCS 2010, p.363-368. 2010.

HURCOMBE, S.D.; MUDGE, M.C.; HINCHCLIFF, K.W. Clinical and clinicopathologic variables in adult horses receiving blood transfusions: 31 cases (1999-2005). **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v. 231, n.2, p. 267-274. 2007.

JAIN, N.C. **Essentials of veterinary haematology**. Pnmsylvania: Lea e Febiger, 1993. 989p.

JAIN, S.; GAUTAN, V.; NASEEM, S. Acute phase proteins: a diagnostic tool. **Journal of Pharmacy and Biollied Sciences**, v. 3, p. 118-127, 2011.

JAMNICKI, M.; KOCIAN, R. VAN DER LINDEN, P.; ZAUGG, M.; SPAHN, D.R. Acute normovolemic hemodilution: physiology, limitations and clinical use. **Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia**, v. 17, n. 6, p. 747-754, 2003.

JASPERS, R.T.; TESTERINK, J.; GASPERA, B.D.; CHANOINE, C.; BAGOWSKI, C.P.; LAARSE, W.J.V.D. Increased oxidative metabolism and myoglobin expression in zebrafish muscle during chronic hypoxia. **Biology Open**, v.3, n.7, p.1-10, 2014.

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 5 ed., San Diego: Academic Press, 1997, 932 p.

KHAN, I.A.; TUN, A.; WATTANASAUWAN, N.; WIN, M.T.; HLA, T.A.; HUSSAIN, A.; VASAVADA, B.C.; SACCHI, T.J. Elevation of serum cardiac troponin I in noncardiac and cardiac diseases other than acute coronary syndromes. **Am J Emerg Med**, v.17, n.3 p.225-229, Mai/1999.

KIKUCHI, M.; INAGAKI, T. Atrial natriuretic peptide in aged patients with iron deficiency anemia. **Archives of Gerontology and Geriatrics**. v.28, n.2, p.105-115, 1999.

KILPATRICK, W.S.; WOSORNU, D.; MCGUINNESS, J.B.; GLEN, A.C.A.; Early diagnosis of acute myocardial infarction: CK-MB and myoglobin compared. **Ann Clin Biochem**. v.30, n.5, p. 435-438, Set/1993.

KLEIN G, KAMPMANN M, BAUM H, RAUSCHER T, VUKOVIC T, HALLERMAYER K, REHNER, H.; MÜLLER-BARDORFF, M.; KATUS, H.A. Clinical performance of the new cardiac markers troponin T and CK-MB on the Elecsys 2010. A multicentre evaluation. **Wien Klin Wochenschr Suppl**, v.3, n.1, p.40 –51. 1998.

KURIBAYASHI, T.; SHIMADA, T.; MATSUMOTO, M.; KAWATO, K.; HONJYO, T.; FUKUYAMA, M.; YAMAMOTO, Y; YAMAMOTO,S.; Determination of Serum C-

Reactive Protein (CRP) in Healthy Beagle Dogs of Various Ages and Pregnant Beagle Dogs. **Experimental Animals**, v. 52, n.5, p. 387-390, 2003.

LAUSCHER, P.; KERTSCHO, H.; RAAB, L.; HABLER, O.; MEIER, J. Changes in heart rate variability across different degrees of acute dilutional anemia. **MINERVA ANESTESIOLOGICA**. v.77, n.10, p. 943-951 Out/2011.

LEE, H. S.; CROSS, S. J.; GARTHWAITE, P.; DICKIE, A.; ROSS, I.; WALTON, S.; JENNINGS, K.; Comparison of the value of novel rapid measurement of myoglobin, creatine kinase, and creatine kinase MB with the electrocardiogram for the diagnosis of acute myocardial infarction. **Br Heart J**. v. 71, n.4, p.311-315, Abr/1994,

LEE, T.H., GOLDMAN, L. Serum enzyme assays in the diagnosis of acute myocardial infarction. **Ann Intern Med**. v.105, n.2, p. 221-233, Ago/1986.

LEITÃO, L.M.M.; ROMÃO, F.G.; NARDO, C.D.D.; MACHADO, L.H.A.; LOURENÇO, M.L.G.; VAILATI, M.C.F. Eletrocardiograma em cães – revisão. **Revista Clínica Veterinária**. n.91, p.32-44, 2011.

LEITE, J. H. A. C.; PEREIRA, P. M. Anemia hemolítica imunomediada em cães-relato de três casos. **Semina : Ciências Agrárias**, v. 32. n. 1, p. 319-326, 2010.

LEUNG, J.M; LEUNG; J.M.; WEISKOPF, R.B.; FEINER, J.; HOPF, H.W.; KELLEY, S.; VIELE, M.; LIEBERMAN, J.; WATSON, J.; NOORANI, M.; PASTOR, D.; YEAP, H.; HO, R.; TOY, P. Eletrocardiographic ST-segment changes during acute, severe Isovolemic Hemodilution in humans. **Anesthesiology**, v.93, n.4, p. 1004 – 1010, Out/2000,

LEVY, P.S.; KIM, S.J.; ECKEL, P.K.; CHAVEZ, R.; ISMAIL, E.F.; GOULD, S.A.; RAMEZ-SALEM, M.; CRYSTAL, G.J. Limit to cardiac compensation during acute normovolemic hemodilution: influence of coronary stenosis. **American Journal of Physiology**. v.265, p.340-349, 1993.

LINKLATER, A.K.J.; LICHTENBERGER, M.K.; THAMM, D.H.; TILLEY, L.; KIRBY, R. Serum concentrations of cardiac troponin I and cardiac troponin T in dogs with class IV congestive heart failure due to mitral valve disease, **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**. v.17, n.3, p.243-249, 2007.

LOBETTI, R. et al. Cardiac troponins in canine babesiosis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.16, n.1, p.63-68, 2002.

LOPEZ JR, ROJAS B, GONZALEZ MA, TERZIC A: Myoplasmic Ca²⁺ concentration during exertional rhabdomyolysis. **Lancet**, v.345, n.8947, p. 424-425, Fev/1995.

MAIR, J.; ARTNER-DWORZAK, E.; LECHLEITNER, P.; MORASS, B.; SMIDT, J.; WAGNER, I.; DIENSTL, F.; PUSCHENDORF, B. Early diagnosis of acute myocardial infarction by a newly developed rapid immunoturbidimetric assay for myoglobin. **Br Heart J**, v. 68, n. 5, p. 462-468, Nov/1992.

MARKS, A.D.: Myoglobinuria. **Am J Med Sci**. v. 261, n.6, p. 351-353, Jun/1971.

MARTÍNEZ-SUBIELA, S.; CERÓN, J.J. Effects of hemolysis, lipemia, hyperbilirubinemia, and anticoagulants in canine C-reactive protein, serum amyloid A, and ceruloplasmin assays. **Can Vet J**, v.46, n.8, p.625–629, jul/2005.

MARTINS, C. S. Troponina: Estrutura, Fisiopatologia e Importância Clínica para Além da Isquemia Miocárdica. **Arquivos de medicina**, v.23, n.6, p.221-240, 2009.

MATIJATKO, V.; MRLJAK, V.; KIS, I.; KUCER, N.; FORSEK, J.; ZIVICNJAK, T.; ROMIC, Z.; SIMEC, Z.; CERON, J.J. Evidence of an acute phase response in dogs naturally infected with *Babesia canis*. **Vet. Parasitol.**, v.144, n.34, p.242-250, 2007.

MATTHEWS, L.R. **Cardiopulmonary anatomy and physiology**. Philadelphia: Lippincott, 1996.

MCCOMB, J.M.; MCMASTER, E.A.; MACKENZIE, G.; ADGEY, A.A.J.; Myoglobin and creatine kinase in acute myocardial infarction. **Br Heart J**. v. 51, n. 2, p. 189-94, Feb/1984.

MCMICHAEL, M.A.; LEES, G.E.; HENNESSEY, B.S.; SANDERS, M.; BOGGESS, M. Serial plasma lactate concentration in 68 puppies aged 4 to 80 days. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**. V.15, n.1, p. 17-21, 2005.

MEHTA, B.C.; PANJWANI, D.D.; JHALA, D.A. Eletrophysiologic abnormalities of heart in iron deficiency anemia: effect of iron therapy. **Acta Haematologica**. v.70, n.3, p. 189-193, 1983.

MORROW, D.A. Troponins in patients with acute coronary syndromes: biologic, diagnostic, and therapeutic implications, **Cardiovasc. Toxicol.**, v.1,n.2, p.105-10, 2001.

MORROW, D.A. AND DE LEMOS, J.A. Benchmarks for the assessment of novel cardiovascular biomarkers, **Circulation**. v.115, n.8, p.949-952, 2007.

MUCHA, C.J.; CAMACHO, A.A. Determinação da pressão arterial. In: BELERENIAN, G.C.; MUCHA, C.J.; CAMACHO, A.A. **Afeções cardiovasculares em pequenos animais**. São Caetano do Sul, SP.: Interbook, 2003. p.68-71.

MUGHAL, M.N.; ABBAS, G.; SAQIB, M.; MUHAMMAD, G. Massive attack by honeybees in a German shepherd dog: description of a fatal case and review of the literature. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v.20, n.55, p.1-4, 2014.

MUNHOZ, T.D.; FARIA, J.L.M.; HERNANDES, G.V.; JOÃO, C.F.; PEREIRA, W.A.B.; ANDRÉ, M.R.; MACHADO, R.Z.; TINUCCI-COSTA, M. Mensuração da proteína C-reativa na infecção experimental por *Ehrlichia canis* (amostra jaboticabal) e após o tratamento com cloridrato de doxiciclina em cães. **Vet. Not.**, Uberlândia, v.15. n.2, jul./dez. 2009.

MURATA, H.; SHIMADA, N.; UOSHIOKA, M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. **The Vet. J.**, v.168, n.1, p.28-40, 2004.

NAKAMURA, M.; TAKAHASHI, M.; OHNO, K.; KOSHINO, A; NAKASHIMA, K.; SETOGUCHI, A.; FUJINO, Y.; TSUJIMOTO, H.; C-Reactive Protein Concentration in Dogs with Various Diseases. **J. Vet. Med. Sci.**, v.70, n.2, p.127-131, set/2008.

NELSON, R.W.; COUTO, C. G. **Medicina interna de pequenos animais**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010, 1468 p.

NETO, N.S.R.; CARVALHO, J.F. O uso de provas de atividade inflamatória em reumatologia. **Rev. Bras. Reumatol.** v.49, n.4, P. 413-430, jul./ago, 2009.

NEUWALD, E.B. **Avaliação hematológica, bioquímica e eletrocardiográfica de cães com diferentes neoplasias tratados com doxorubicina**. 2009. 93f. Dissertação (mestrado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, programa de pós-graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, 2009.

NOGUEIRA, F. S.; SILVA, C. L. S. P.; ARAUJO, S. A.; BORGES, J. H. R.; Alterações no proteinograma de animais portadores de leishmaniose visceral canina. **Ciências Agrárias e da Saúde-FEA**, v. 2, n. 2, p. 25-27, 2002.

NOZAKI, J. et al. The effects of acute normovolemic hemodilution on left ventricular systolic and diastolic function in the absence or presence of β -adrenergic blockade in dogs. **Anesth. Analg.**, v.94, p.1120-1126, 2002.

NUNES, J.P.L.; MAGALHÃES, D.; DIAS, P.; FARIA, D.B. Troponin I elevation after pericardiocentesis for cardiac tamponade: a role for myocardial strain? **Int J Cardiol**, v.81, p. 277-278, 2001.

NUNN J.F. **Applied respiratory physiology**. 7. ed. London: Butterworth, 2010. 179-211.

O'BRIEN, P.; LANDT, Y.; LADENSON, J.H. Differential reactivity of cardiac and skeletal muscle from various species in a cardiac troponin I immunoassay. **Clin. Chem.**, v.43, p.2333-2338, 1997.

OBZANSKY, D.M.; RABIN, D.M.; Simons, D.M.; TSENG, S.Y.; SEVERINO, D.M.; EGGELTE, H.; FISHER, M.; HARBRON, S.; STOUT, R.W.; DI PAOLO, M.J.; Sensitive, colorimetric enzyme amplification cascade for determination of alkaline phosphatase and application of the method to immunoassay of thyrotropin. **Clin Chem**, v. 37, n. 9, p. 1513-1518, Set/1991.

OYAMA, M.A.; SISSON, D.D. Cardiac troponin-I concentration in dogs with cardiac disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.18, n.6, p. 831-839, 2004.

PAGE, R. L. Hematologia. In: BIRCHARD, S. J.; SHERDING, R. G. **Manual Saunders clínica de pequenos animais**. 2. ed. São Paulo: Roca, Seção 3, cap. 20, 2003, p. 172-176.

PINCELLI, V. A. **Avaliação da concentração de lactato e da eletrocardiografia em cães anêmicos**. 2012. 82f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Londrina, Programa de pós-graduação em Ciência Animal, Londrina, 2012.

PINO, V.O. et al. Determinación de los niveles séricos de enzimas cardíacas em perros adultos com enfermedad cardiovascular. **Revista de Investigaciones Veterinarias del Peru**, v.19, n.2, p.144-147, 2008.

PITTMAN, R.N. The microcirculation and tissue oxygenation. In: SIBBALD, W.J.;

- MESSNER, K.F.W.; FINK, M.P. **Tissue oxygenation in acute medicine**. 1 ed., Berlin: Springer-Verlag, 1998. p.36-54.
- RABELO, R.C.; CROWE JR., D.T. **Fundamentos da Terapia Intensiva Veterinária em Pequenos Animais Conduitas do Paciente Crítico**. 1ª edição. Rio de Janeiro: L.F. Livros, 2005.
- RIDKER, P.M.; HENNEKENS, C.H.; BURING, J.E.; RIFAI, N. C-Reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. **N Engl J Med** v.342, p.836-846,2000.
- RIKIHISA, Y.; YAMAMOTO, S.; KWAK, I.; IQBAL, Z.; KOCIBA, G.; MOTT, J.; CHICHANASIRIWITJAYA, W.; C-Reactive protein and alpha 1-acid glycoprotein levels in dogs infected with Ehrlichia canis. **J. Clin. Microbiol.**, v.32, n.4, p. 912-917. Abr/1994.
- RISHNIW, M.; BARR, S.C.; SIMPSON, K.W.; WINAND, N.J.; WOOTTON, J.A.M. Cloning and sequencing of the canine and feline cardiac troponin I genes. **Am. J. Vet. Res.**, v.65, n.1, p.53-58, 2004.
- RODRIGUES, V.; TONIOLLO, G. H.; LOPES, P. R.; CARDILLI, D. J.; OLIVEIRA, J. A. . Teores séricos de cortisol de fêmeas caninas (Canis familiaris- Linnaeus, 1758) submetidas à cesariana. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, p. 1186-1190, 2009.
- ROSA, N.G.; SILVA, G.; TEIXEIRA, A.; RODRIGUES, F.; ARAÚJO, J.A. Rabdomiólise, **Acta Méd Port**, Lisboa, v.18 n.04, p. 271-282, 2005.
- SANTOS, A.L.F.; LARSSON, M.H.M.A.; PEREIRA, G.G.; SANTOS, M.M.; GUTIERREZ, V.C.R. Dosagem sérica de troponina I em cães com desnível do segmento ST utilizando quimioluminescência. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.63, n.6, p.1330-1336, 2011.
- SCHOBBER, K.; CORNAND, C; KIRBACH, B.; AUPPERLE, H.; OECHTERING, G. Serum cardiac troponin I and cardiac troponin T concentrations in dogs with gastric dilatation-volvulus. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.221, n.3, p.381-388, Ago/2002.
- SCHOBBER, K.E.; KIRBACH, B.; OECHTERING, G. Noninvasive assessment of myocardial cell injury in dogs with suspected cardiac contusion. **J. Vet. Cardiol.**, v.1, p.17-25, 1999.
- SELTING, K.A.; LANA, S.E.; OGILVIE, G.K.; OLMSTEAD, A.; MYKLES, D.L.; BRIGHT, J.; RICHARDSON, K.L.; WALTON, J.A.; MONNET, E.; FETTMAN, M.J. Cardiac troponin I in canine patients with lymphoma and osteosarcoma receiving doxorubicin: comparison with clinical heart disease in a retrospective analysis, **Vet Comp Oncol**. n.2,n.3, p.142-56, 2004.
- SEGUEL, M.; PAREDES, E.; PAVÉS, H.; GOTTDENKER, N.L. Capture-induced stress cardiomyopathy in South American fur seal pups (*Arctophoca australis gracilis*). **Marine Mammal Science** v.30, n.3, p.1149–1157, July/2014.
- SHIMADA, T.; ISHIDA, Y.; SHIMIZU, M.; NOMURA, M.; KAWATO, K.; IGUCHI, K.; JINBO, T. Monitoring c-reactive protein in beagle dogs experimentally inoculated with Ehrlichia canis. **Vet. Res. Commun.**, v.26, n.3, p.171-177, 2002.

SHINDE, S.B. et al. Relevant cardiac biochemical markers. **Bombay Hospital Journal**, v.46, n.4, 2004.

STIEKMANN, L.; CERIOTTI, F.; FERARD, G.; KANNO, T.; SCHUMANN, G.; BONORA, R.; CLERC-RENAUD, P.; FERRERO, C.A.; IFCC Primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. Part 2. Reference procedure for the measurement of catalytic concentrations of creatine kinase [ATP: creatine N-phosphotransferase (CK), EC 2.7.3.2] **Clin Chem Lab Med.**, v. 40, n.6, p. 635-642 2002.

SINGER, M.; GRANT, I. **ABC of intensive care**. Chicago: BMJ Books, 1999.

SINGH, K.; SOOD, S. Mean electrical axis of heart in chronic severe anemia. **Indian J. Med. Sci.**, v.50, n.10, p. 359-361, 1996.

SPOTSWOOD, T.C.; KIRBERGER, R.M.; KIRB, L.M.P.K; REYERS, F.; VAN DER MERWE, L. A canine model of normovolaemic acute anaemia. **Onderstepoort J Vet Res**; v.72, n.2, p.135-143, Set/2005.

SPRATT, D.P.; MELLANBY, R.J; DRURY, N.; ARCHER, J. Cardiac troponin I: evaluation I of a biomarker for the diagnosis oh heart disease in the dog. **J. Small Anim. Pract**, v.46, n.3, p.139-145, 2005.

STANOJEVIC, M.; STANKOV, S. Eletrocardiographic changes in patients with chronic anemia. **Srpski Arhiv za Celokupno, Lekarstvo**, v.126, n.11-12, p. 461-466, 1998.

THOMAS, L.; MÜLLER, M.; SCHUMANN, G.; WEIDEMANN, G.; LUNAU, S.; PICK, K.H.; SONNTAG, O. Consensus of DGKL and VDGH for interim reference intervals on enzymes in serum. **J. Lab. Med.** v.29, p.301–308, 2005.

THOMAS, W.P.; GABER, C.E.; JACOBS, G.J.; KAPLAN, P.M.; LOMBARD, C.W.; MOISE, N.S.; MOSES, B.L. Recommendations for standards in transthoracic two-dimensional echocardiography in the dog and cat. **Vet. Radiol.**, v.35, n.3, p. 173-178, 1994.

THRALL, M.A.; BAKER, D.C.; CAMPEBELL, T.W.; DENICOLA, D.; FETTMAN, M.J.; LASSEN, E.D.; REBAR, A.; WEISER, G.; **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. 1 ed., São Paulo: Roca, 2006. 582p.

TILLEY, L.P. **Essentials of canine and feline electrocardiography**. 3. ed. Philadelphia: Lea e Febiger, 1992. 470p.

TIZARD, I. R.; **Imunologia Veterinária: uma introdução**. 6 ed. São Paulo: Roca, 2002. 532 p.

TUCKER, A. Respiratory pathophysiology. In: SLATTER, D.H. **Textbook of small animal surgery**. 3 ed. Philadelphia: Elsevier Science, 2003. p. 781-797.

TVEDTEN, H.; WEISS, D.; Classification and laboratory evaluation of anemia. In FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's veterinary hematology**. 5 ed. Philadelphia, 2000. p. 143-150.

- TVEDTEN, H.; WEISS, D.; The complete blood count and bone marrow examination: general comments and selective techniques. In: WILLARD, M. D. e TVEDTEN, H. **Small animal clinical diagnosis by laboratory methods**. 4. ed. St. Louis, Missouri: Saunders, 2000. Cap. 2, p.14-37.
- VAN DER LIDEN, P. ; DE HERT, S; MATHEU, N.; DEGROOTE, F.; SCHMARTZ, D.; ZHANG, H.; VINCENT, J.L. Tolerance to acute isovolemic hemodilution: Effect os Anesthetic Depth. **Anesthesiology**. v.99, n.1, p.97-104, 2003.
- VAN DER LIDEN, P. Acute normovolemic anemia: physiological and practical concerns. **Articole de sinteza Jurnalul de Chirurgie**. v.3, n.3, p. 230-237, 2007.
- VANHOLDER, R.; SEVER, M.S.; EREK, E.; LAMEIRE, N.; Rhabdomyolysis. **J Am Soc Nephrol**, v.11, n.8, p. 1553-1561, Ago/2000.
- VATNER, S.F. et al. Regional circulatory adjustments to moderate and severe chronic anemia in conscious dogs at rest and during exercise. **Circ. Res.**, Dallas, v.30, p.731-740, 1972.
- VECINA, J. F.; PATRÍCIO, R. F.; CIARLINI, P. C. Importância do fibrinogênio plasmático na identificação de processos inflamatórios de cães. **Ciências Veterinárias dos Trópicos**, v.9, n. 1, p. 31-35, 2006.
- WADE, O.L.; BISHOP, J.M. **cardiac output and regional blood flow**. Oxford: Blackwell Scientific Publication Ltd.; 1962. 268 p.
- WEISKOPF, R.B.; VIELE, M.K.; FEINER, J.; KELLEY, S.; LIEBERMAN, J.; NOORANI, M.; LEUNG, J.M.; FISHER, D.M.; MURRAY, W.R.; TOY, P.; MOORE, M.A. Human cardiovascular and metabolic response to acute, severeisovolemic anemia. **Journal of the American Medical Association**, Chicago, v.279, n.3, p.217-221, 1998.
- WEISS, D.J.; WARDROP, K.J.; **Schalm's Veterinary Hematology**. 6 ed., Ames: Wiley-Blackwell, 2010. 1232p.
- WEST, J.B. Oxygen enrichment of room air to relieve the hypoxia of high altitude. **Resp. Physiol**. n.99, p.225-232, 1995.
- WU, A.H.B., FORD L. Release of cardiac troponin in acute coronary syndromes: ischemia or necrosis? **Clin. Chim. Acta**, v.284, p.161-74, 1999.
- YAMAMOTO, S.; SHIDA, T.; HONDA, M.; ASHIDA, Y.; RIKIHISA, Y.; ODAKURA, M.; HAYASHI, S.; NOMURA, M.; ISAYAMA, Y.; Serum C-reactive protein and immune responses in dogs inoculated with Bordetella bronchiseptica (phase I cells). **Veterinary Research Communications**, v.18, n.5, p. 347-357, 1994.
- YAMAMOTO, S.; TAGATA, K.; NAGAHATA, H.; ISHIKAWA, Y.; MORIMATSU, M.; NAIKI, M. Isolation of canine C-reactive protein and characterization of its properties. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.30, n.4, p.329-339, jan/1992.
- YAPHÉ, W.; GIOVENGO, S.; MOISE, S. Severe cardiomegaly secondary to anemia in a kitten. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.202, n.6, p.961-964, 1993.

YONEZAWA, L.A.; SILVEIRA, V.F.; MACHADO, L. P.; KOHAYAGAWA, A. Marcadores cardíacos na medicina veterinária. **Cienc. Rural**, Santa Maria. vol. 40, no.1, Fev 2010, p.222-230.